1943 № 2

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES
DE L'UNION DES RÉPUBLIQUES SOVIÉTIQUES SOCIALISTES

SÉRIE BIOLOGIQUE

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР

МОСКВА 1943

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

SÉRIE BIOLOGIQUE

№ 2

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР

Москва ★ 1943 ★ Moscou

ОТВЕТСТВЕННЫЕ РЕДАКТОРЫ

акад. В. Л. Комаров и акад. Л. А. Орбели

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

акад. И. И. Шмальгаузен, чл.-корр. Х. С. Коштоянц,
проф. Р. И. Белкин, доц. С. М. Дионесов,
доц. Н. И. Михельсон, проф. Б. К. Шишкин

Printed in Soviet Union

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СОЮЗА ССР
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS
Отделение биологич. наук № 2, 1943 Classe des sciences biologiques

Л. Ф. БЕРЕЗКИНА

О ВОЗМОЖНОСТИ ИНДУКЦИИ ХРЯЩЕОБРАЗОВАНИЯ IN VITRO

Институт эволюционной морфологии (директор — акад. И. И. Шмальгаузен)
Академии Наук СССР

Поступила 21.IX. 1941

Образование хряща и кости в эксперименте in vitro описано рядом исследователей [(Fell (a), (b), Caillard, Румянцев и Березкина (a)].

Можно считать установленным, что развитие кости или хряща в высаженных кусочках происходит в тех случаях, когда берется ткань, обладающая свойством давать хрящ и кость и при нормальном развитии в организме. Но появляются работы, свидетельствующие о возможности получить in vitro образование хряща и кости в тканях, в норме не обладающих хондро- или остеогенной потенцией. Так, Fischer и Törö говорят о существовании тканей-индукторов, способных вызвать процесс образования кости или хряща in vitro даже в тканях из миокарда.

Однако нам эти явления индукции представляются сомнительными. В наших опытах (Румянцев и Березкина (a, б) мы не смогли подтвердить, что хрящ можно получить в чистых культурах из соединительной ткани или из ткани сердца куриного эмбриона. Вместе с тем мы отлично понимаем, что доказательство существования такого рода индукционных воздействий не только способствовало бы изучению факторов образования хрящевой и костной ткани вообще, но и дало бы много для понимания вопросов, связанных с проблемой клеточной передифференцировки и тканевой метаплазии. Экспериментальный материал наших работ 1937—1938 гг. заставляет нас склоняться к взгляду, что клетки мезенхимы детерминируются очень рано и не теряют этой детерминированности при длительном культивировании. Морфологическое же упрощение клеток при длительном культивировании еще не означает изменения их качественной специфики. Между тем, Törö, экспериментируя на материале, как имеющем хондрогенную потенцию, так и не имеющем ее, утверждает, что результаты воздействия на растущую ткань подсаженной сетчатки почти одинаковы, т. е. в обоих случаях развивается хрящ. Сомневаясь в возможности подобной передифференцировки клеток и в описываемом in vitro индуцирующем действии сетчатки, мы и решили произвести проверку его работы. Так как возможность образования хряща и кости in vitro из тканей, обладающих костной и хрящевой потенцией, установлена, а индуцирующее свойство хряща нами проверено, мы решили исследовать только воздействие сетчатки на культуры фиброцитов, полученных из ткани сердца.

Материал и методика

Материалом для наших наблюдений служили штаммовые культуры фиброцитов, полученные из сердца 6-дневного куриного эмбриона. К хорошо растущим культурам были подсажены маленькие кусочки сетчатки, взятой из глаза вылупляющегося цыпленка. Культуры ставились по методу висячей капли, в обычной среде, состоящей из плазмы и эмбрионального экстракта. Пересадка производилась через 72 часа без разрезания культуры на части. Благодаря высаженному вместе с сетчаткой пигментному эпителию можно было хорошо наблюдать за состоянием сетчатки в культурах. Кусочки сетчатки, подсаженной с одного края культуры, разрастаясь с течением времени все больше и больше, окружали первоначальную культуру соединительной ткани со всех сторон. Сперва культуры стали давать менее пышный рост, затем почти во всех них зона роста изменила свой характер: она состояла уже из эпителиальных клеток. На 20-й день после того, как была подсажена сетчатка, появилось постоянное разжижение среды вокруг культуры. Совместное культивирование двух тканей продолжалось 28 дней и охватило 10 пассажей. Затем культуры были фиксированы в ценкер-формоле, заключены в целлоидин-парафин и разложены на срезы. Полученные препараты окрашивались гематоксилином по Carazzi и азокармином по Heidenhain.

Результаты наблюдений

Обычно в высаженной ткани эмбрионального сердца происходит постепенное развитие волокон и замещение миобластов элементами соединительной ткани. По нашим наблюдениям [Румянцев и Березкина (а)], до 10-го пассажа развитие волокон не достигает сколько-нибудь значительных размеров, но уже к 20-му пассажу соединительнотканные волокна составляют существенную часть всей тканевой массы культуры. Расположение волокон может быть разнообразным: они или идут концентрическими кругами, или разбросаны равномерно по всей культуре. В наших контрольных культурах, т. е. в культурах ткани сердца 6-дневного куриного эмбриона, на 25-м пассаже можно наблюдать организацию ткани, в точности совпадающую

Рис. 1. Культура ткани сердца 6-дневного куриного эмбриона на 25-м пассаже

Вся ткань культуры состоит из фиброцитов и межуточного вещества, в котором во всех направлениях проходят волокна

с описанной для длительно существующих культур. На препаратах вся ткань культуры состоит из фиброцитов и межуточного вещества, в котором во всех направлениях проходят волокна (рис. 1). Волокна эти то идут в виде отдельных волоконец, окрашивающихся анилиновой синью в яркоголубой цвет, то образуют тяжи, состоящие из нескольких волокон, соединившихся вместе. Но эти тяжи нигде не достигают большой мощности. Клеток много, лежат они между волокнами свободно. Межуточное вещество при окраске азаном окрашивается в лиловый цвет. Местами это вещество сильно вакуолизировано, почти или совсем лишено клеток и имеет характер мелкопузырчатой ткани (рис. 2).

Рис. 2. Центральная часть культуры, заснятой на рис, 1

Фиброциты свободно лежат в межуточном веществе, в котором проходят отдельные или собранные в тяжи волокна. Межуточное вещество местами совершенно лишено клеток и сильно вакуолизировано

В опытных культурах, т. е. в культурах той же ткани эмбрионального сердца, к которым была подсажена сетчатка, картина несколько иная. Прежде всего мы должны отметить, что ни на одном из наших препаратов мы не могли обнаружить никаких элементов сетчатки, кроме пигментного эпителия. На всех препаратах эпителий окружает соединительную ткань со всех сторон, образуя фестончатые складки с одной стороны. Изучение срезов, сделанных как в поперечном, так и в продольном направлениях, показывает, что, несмотря на некоторые различия в центральной части, опытные культуры имеют в общем следующее строение: зона роста почти во всех культурах состоит исключительно из эпителиальных клеток; ближе к основному кусочку эпителиальные клетки перемежаются волокнами, затем идет ряд пигментного эпителия, образующего складки, и, наконец, самый центр культуры, составляющий в большинстве случаев волокна, среди которых встречаются участки основного вещества и небольшое количество фиброцитов. Повсюду масса пигментных зерен, выпавших из клеток, и чем ближе к периферии культуры, тем их больше (рис. 3 и 4). Центральные участки опытных культур имеют некоторые различия в разных культурах. Так, в одних весь центр сплошь состоит из волокон, окрашивающихся азаном в яркоголубой цвет и организованных в более или менее мощные тяжи. Между этими тяжами можно найти участки основного вещества, окрашивающегося в голубой цвет, и кое-где в небольшом количестве фиброциты. В других — волокнистые тяжи разделяются как бы островками, состоящими то из фиброцитов, то из каких-то бесформенных масс, интенсивно окрашивающихся азо-

кармином, то из участков, состоящих из вакуолизированного межуточного вещества.

В двух культурах можно было отметить участки гиалинизированного, гомогенного в проходящем свете вещества, окрашивающегося в бледноголубой цвет при окраске азаном, причем эти участки расположены в непосредственной близости к пигментному эпителию.

Вообще нужно отметить, что вблизи пигментного эпителия и скопления выпавших пигментных зерен волокнообразование происходит особенно интенсивно. Но хряща или кости или даже чего-либо намекающего на начало процесса их образования мы в наших культурах не обнаружили.

Рис. 3. Культура ткани сердца 6-дневного куриного эмбриона на 25-м пассаже, к которой на 16-м пассаже была подсажена сетчатка вылупляющегося цыпленка

Основной кусочек соединительной ткани окружен со всех сторон эпителием, образующим с одной стороны фестончатые складки. Весь центр культуры состоит из волокон, среди которых видны в небольшом количестве фибробласты и местами скопления основного вещества

Обсуждение результатов

Сопоставляя характер организации ткани in vitro в опытных и контрольных препаратах, мы можем констатировать следующее: ганглиозный слой высаженной сетчатки не развивался вовсе, все элементы сетчатки за исключением пигментного эпителия полностью дегенерировали. За счет элементов сетчатки можно отнести обнаруженный нами в некоторых культурах клеточный распад, интенсивно окрашивающийся азокармином. Насколько нам известно, еще никому не удалось наблюдать длительного переживания нервных клеток in vitro. Поэтому дегенерация этих элементов в наших опытах не является чем-либо неожиданным. Образование складок пигментным эпителием есть проявление свойств эпителия, уже не раз описанных. Наиболее интересным моментом в этом явлении надо считать возможность организующего значения соединительной ткани или растущих фиброцитов на образование этих складок. Некоторые исследователи, как, например, Kapel, Drew, приписывают такую организующую способность соединительной ткани в отношении эпителия. Наш материал вообще недостаточен для решения подобного вопроса, но нам кажется возможным и другое объяснение этого явления: растущий эпителий находится в состоянии натяжения, и изменение этого натяжения при изменении физических свойств среды может вызвать образование складок.

Эпителий в наших культурах содержал пигментные зерна во всех клетках. Очевидно, он сохранил способность образовать пигмент. Это вполне вероятно, так как мы знаем, что способность образовы-

вать пигмент сохраняется эпителием in vitro длительный срок. Ebeling наблюдал это явление даже в 18-месячной культуре.

Таким образом, мы видим, что совместное культивирование с соединительной тканью не вызвало в сетчатке и, в частности, в слое пигментного эпителия никаких специфических явлений. Теперь посмотрим, какое влияние оказала подсаженная сетчатка на соединительную ткань. Совместное культивирование с сетчаткой, несомненно, вызвало в культуре ткани эмбрионального сердца усиленное волокнообразование, и это усиление интенсивнее всего именно вблизи

Рис. 4. Часть культуры, заснятой на рис. 3

Справа пигментный эпителий, образовавший фестончатые складки. В клетках эпителия четко видны пигментные зерна. Ближе к периферии эпителиальные клетки перемежаются волокнами. Весь центр культуры состоит из волокон, между которыми лежат в небольшом количестве фибробласты. В верхней части волокнистой зоны виден довольно большой участок основного вещества

пигментного эпителия. Но никаких признаков хотя бы даже начала процесса косте- или хрящеобразования мы не смогли отметить. Скопления основного вещества и вакуолизированные участки, лишенные клеток, описаны Mollendorff еще в 1932 г. как постоянное явление в центре основного кусочка при длительном культивировании in vitro. Они имеются и в контрольных культурах, к которым была подсажена сетчатка, но ввиду того, что мы наблюдали это явление при подсаживании не только сетчатки, но и хряща и волокнистой соединительной ткани, как это уже описано в наших предыдущих работах [Румянцев и Березкина (б), Березкина], мы не считаем это явление результатом специфического действия той или иной ткани, а следствием существования ткани в условиях замкнутой системы, создающейся в наших опытах. На основании наших опытов мы можем утверждать, что ни сетчатка, ни пигментный эпителий не являются

индукторами образования хряща, т. е. то же, что мы раньше установили в отношении хряща.

Таким образом, мы приходим к заключению и делаем выводы, противоположные выводам Törö. Касаясь его работы, мы, кроме полного несогласия с его выводами, должны отметить в ней кое-какие моменты, подлежащие критике и еще больше убеждающие нас в правильности наших наблюдений. Во-первых, у него приведены прекрасные фотографии, демонстрирующие хрящ, развившийся в культурах из тканей легкого и склеры глаза, взятых у эмбриона; но эти ткани кажутся нам мало надежными, так как склера птиц и в норме может охрящевать, а вместе с тканью легкого может легко попасть и ткань трахеи или бронхов, в норме имеющих в своем составе хрящ. Единственная фотография, демонстрирующая образование хряща в культуре фиброцитов из сердца, совершенно неубедительна: мы не видим там описываемого автором «губчатого хряща». Во-вторых, нас удивляет то, что, по описаниям Törö, в культурах фибробластов, полученных из склеры, т. е. обладающих хондрогенными свойствами, под влиянием ретины образуется не хрящ, а только губчатая остеопластическая субстанция, в то время как в культурах фиброцитов из сердца образуется хрящ. На основании всей известной нам литературы, посвященной вопросу образования кости и хряща in vitro, мы можем говорить с уверенностью только о фактах развития их именно в тканях, обладающих соответствующей потенцией. Возможно, что Törö случайно взял в опыт патологический материал, который и дал совершенно необоснованный в норме результат.

В подтверждение нашего предположения можно сослаться на развитие костей в глазу человека, возникающее при различных поражениях сосудистой и белковой оболочек (Ginsberg). Эти случаи в настоящее время подробно описаны и, как нам кажется, с несомненностью говорят за то, что костеобразовательные потенции существуют в тканях глаза. Поэтому нет ничего удивительного, что и при культивировании in vitro они могли проявиться, как это и имело место в опытах Törö. Вот почему мы считаем опыты с тканями оболочек глаза малоубедительными, а явления индукции хрящеобразования недоказанными.

Выводы

При подсаживании маленьких кусочков сетчатки вылупляющегося цыпленка к чистым культурам фиброцитов, полученным из сердца куриного эмбриона, и при совместном культивировании их в течение 28 дней все элементы сетчатки, кроме пигментного эпителия, дегенерируют, а в соединительной ткани происходит усиленное волокнообразование.

Никаких признаков образования хряща, кости или подобных им структур в таких культурах не наблюдается. Так как усиление волокнообразования происходит не только при подсаживании сетчатки, но и хряща и волокнистой соединительной ткани, мы не можем приписать это явление специфическому воздействию сетчатки. Поэтому мы считаем, что сетчатка, так же как и хрящ, не является индуктором хрящеобразования in vitro в тканях, не обладающих хондрогенной потенцией.

ЛИТЕРАТУРА

Березкина Л. Ф. ДАН 21, № 4, 1938.
Румянцев А. В. и Березкина Л. Ф. (а) Арх. анат., гистол. и эмбриол. 17, в. 2, 1937; (б) ДАН, 20, № 9, 1938.
Drew. Brit. J. exper. Pathol. *4*, 1923.
Ebeling C. r. Soc. Biol. *90*, 1924.
Fell H. (a) Arch. exper. Zellforsch. *7*, 1928; (b) J. Anatomy, *46*, 19, 1932.
Fischer, Arch. Entwicklungsmech. der Organismen, *125*, 1931.
Gaillard, Protoplasma, 23, H. 2, 1935.
Ginsberg. Handb. spec. und patholog. Anatomie d. Auge, *I*.
Kapel. Arch. exper. Zellforsch. 8, 1929.
Möllendorff. Ztschr. Zellforsch. Mikr. Anatomie, *15*, H. 1, 1932.
Törö. Anatom. Anzeiger, *80*, 1935.

By L. F. BEREZKINA. ON THE POSSIBILITY OF INDUCED FORMATION OF CARTILAGE IN VITRO

SUMMARY

Small pieces of retina from a hatching chick added to pure cultures of fibrocites obtained from the heart of a chick embryo, were allowed a joint cultivation with these cultures for a period of 28 days. The result was that all elements of the retina but the pigment epithelium degenerated and in the connective tissue there was taking place an enhanced formation of fibres.

In these cultures there were no signs of formation of a cartilage, or bone, or any similar structure.

Now the enhanced formation of fibres is observed not only in the case of retina but also when cartilage or fibrous connective tissue are added. There is no reason, therefore, to ascribe this phenomenon to any specific influence of the retina. So it appears reasonably certain that neither retina nor cartilage can induce cartilage formation in vitro in tissues not endowed with chondrogenic potency.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СОЮЗА ССР
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS
Отделение биологич. наук № 2. 1943 Classe des sciences biologiques

Р. Л. БОРСУК

К ВОПРОСУ О РОЛИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ ХВОСТА У АКСОЛОТЛЯ

Отделение органогенеза (зав.— проф. Д. П. Филатов) Института экспериментального морфогенеза Московского государственного университета

Поступила 31.XII. 1939

Вопрос о связи регенерационного процесса с нервной системой представляет большой интерес. Несмотря на то, что в литературе по этому вопросу имеются противоречивые данные, все же в настоящее время несомненным является факт влияния нервной системы на регенерационный процесс.

Так, Rubin, наблюдая регенерацию на денервированной конечности аксолотля, пришел к заключению, что первые стадии регенерационного процесса протекают нормально без участия нервной системы, однако последующее замедление, а затем прекращение регенерации безусловно связаны с нарушением иннервации.

Wolf показал, что после экстирпации сегмента спинного мозга вместе со спинальными ганглиями, нервы которого иннервируют конечность у Triton cristatus, регенерация конечности не наступает. Автор пришел к выводу, что нервная система оказывает влияние на регенерационный процесс. Эти данные были подтверждены в работе Walter. Weiss денервировал конечность тритона на различных стадиях регенерационного процесса и показал, что связь регенерирующего органа с нервной системой необходима на протяжении всего процесса регенерации. Экстирпация нервов конечности, на которой регенерационный процесс начался, влечет за собой прекращение формообразования.

Роль нервной системы при регенерации хвоста изучена значительно меньше. Morgan and Davis ставят вопрос о том, необходимо ли присутствие спинного мозга и хорды на раневой поверхности при регенерации хвоста у головастиков, и приходят к заключению, что нормальная регенерация может начаться только при условии наличия хорды на поверхности среза. Спинной мозг без наличия хорды не достаточен для начала регенерации.

Godlewsky ампутировал хвост у Triton cristatus, удаляя при этом спинной мозг с ампутационной поверхности, и показал, что регенерация не наступала до того времени, пока на конце хвоста не выдифференцировывалась центральная нервная система. Следовательно, присутствие спинного мозга на поверхности среза является необходимым условием нормального течения регенерационного процесса.

Locateli наблюдал торможение регенерации хвоста в том случае, когда в позвоночный канал со стороны ампутационной поверхности вдвигался гуттаперчевый шарик, который препятствовал регенерации спинного мозга.

Таким образом, на основании имеющихся в литературе данных известно, что регенерация хвоста не наступает, если одновременно с ампутацией выключается нервная система. Начало регенерационного процесса связано с нервной системой.

Данная работа ставит своей задачей исследовать, может ли протекать нормально регенерационный процесс хвоста аксолотля, начавшийся в условиях связи с центральной нервной системой, если эта связь будет нарушена, и обладает ли участок спинного мозга,

прилежащий к регенерату, способностью стимулировать регенерационный процесс в условиях нарушения связи данного сегмента спинного мозга с остальной центральной нервной системой.

Экспериментальная часть

Материалом для опытов служили черные и белые аксолотли в возрасте 7—9 месяцев. Нарушение связи регенерата с центральной нервной системой осуществлялось разрушением спинного мозга в области, лежащей непосредственно за регенератом. У аксолотлей предварительно были ампутированы хвосты. Когда регенерат хвоста достигал стадии, на которой начиналось сгущение мезенхимных элементов в осевой части (регенерат был 2—3 мм длины), производилась вторая операция.

Острыми маленькими ножницами в осевой части хвоста, непосредственно за регенератом вырезалось «окошечко» размером в 4 мм³. Таким образом удалялся кусок позвоночника вместе с окружающими его мягкими тканями. Через несколько дней все четыре раневые поверхности «окошечка», образовавшиеся в результате операции, как показали просмотры под лупой, покрывались эпителием. Результаты операции сводятся к следующему: после удаления спинного мозга непосредственно за регенератом регенерация прекращается. Измерения регенератов, производимые через 5 дней, показывают, что регенерат не увеличивается, а, наоборот, уменьшается (с 3 до 2—1½ мм). Особенно сильно регенерат уменьшается посредине. Это уменьшение регенерата происходит главным образом за счет того, что эпителий регенерата стягивается к раневой поверхности, а также вследствие частичной резорбции. Дней через 10 «окошечко» становится значительно меньше. При помощи лупы можно видеть, что каждая из четырех поверхностей среза регенерирует. Регенерационная ткань заполняет «окошечко». Однако проксимальная поверхность среза, на которой заканчивается центральная нервная система, регенерирует значительно быстрее, так что данный регенерат в виде язычка закрывает отверстие (рис. 1). Развитие регенерата продолжается, он протискивается как бы в петлю между старым регенератом и возвышается над всем дистальным концом хвоста. К этому времени старый регенерат густо запигментирован и по окраске ничем не отличается от окружающих его частей. Всего было использовано 20 аксолотлей. Такая картина имела место у большинства подопытных животных. В нескольких случаях (4 аксолотля) новый регенерат из проксимальной поверхности среза, закрыв все «окошечко», примыкал к старому регенерату и в процессе последующего роста продвигал старый регенерат, который как бы шапкой покрывал молодую регенерационную ткань (рис. 2). Наконец, было также несколько случаев, когда новый регенерат, достигнув старого регенерата, гистолизировал его и последний совершенно исчезал.

Различные вариации, имеющие место в результате одной и той же операции, объясняются, очевидно, положением проксимальной поверхности среза по отношению к регенерату.

Таким образом, разобранная серия опытов дает возможность предположить, что нарушение связи регенерата с центральной нервной системой влечет за собою прекращение регенерационного процесса.

Goldfarb, исследуя значение нервной системы для регенерации, пришел к выводу, что регенерационный процесс может протекать без нервных влияний. Этот автор утверждает, что торможение

регенерационного процесса, которое наблюдалось рядом исследователей после экстирпации нервов или сегмента спинного мозга, иннервирующего регенерирующий орган, связано с тяжелыми повреждениями тканей. Повреждение тканей снижает жизнедеятельность животного, что может послужить причиной прекращения регенерации.

Для того чтобы выяснить вопрос, не оказывает ли тормозящего действия травма в виде отверстия, сделанного в подлежащей реге-

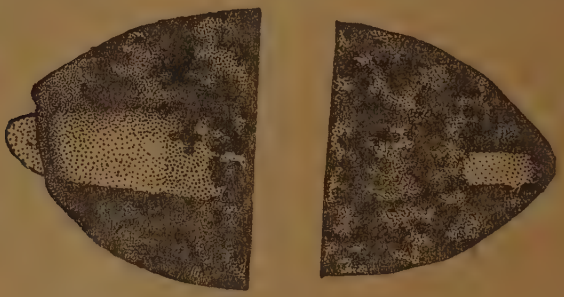


Рис. 1 Рис. 2

нерату ткани, были поставлены контрольные опыты на 10 аксолотлях. Аксолотлям с регенератом хвоста той же стадии, на которой производилась операция на опытных животных, наносилась травма. Последняя выражалась в том, что у части аксолотлей нарушались подлежащие регенерату ткани (кожа, мышцы и позвоночник без перерезки) в осевой части. У других животных вырезывались два «окошечка» в ткани плавника. Промеры показали, что после такой травматизации регенерационный процесс не тормозился, регенерат увеличивался и по длине не отставал от нормального регенерата хвоста, ампутированного одновременно. Может возникнуть вопрос, не является ли причиной прекращения регенерационного процесса после вырезания «окошечка» возникновение нового процесса регенерации на проксимальной поверхности среза. Ведь для нормального развития регенерата необходим большой приток регенерационного клеточного материала и питательных веществ. Можно было бы думать, что новый регенерат мобилизует большую часть материала для себя и этим самым тормозит развитие старого регенерата. Для выяснения этого у 5 аксолотлей после вырезания «окошечка» проксимальная поверхность среза покрывалась лоскутом кожи, который тормозил регенерацию. Проксимальный регенерат не развивался. Результаты данного опыта ничем не отличались от результатов опытов, где поверхность среза оставалась свободной. Регенерационный процесс и в этом случае прекращался.

Для того чтобы окончательно установить большое значение центральной нервной системы в процессе регенерации хвоста, недостаточно было использовать описанную выше методику операции. Казалось необходимым поставить эксперимент так, чтобы в тканях, прилежащих к регенерату, отсутствовала только центральная нервная система, чтобы другие ткани, главным образом скелет и мышцы, были как можно меньше травматизированы. Может также вызвать возражение неизбежность нарушения нормального кровоснабжения регенерата, так как при вырезании «окошечка» всегда прерывается цельность главного кровеносного сосуда, проходящего по всей оси хвоста и снабжающего кровью дистальную его часть.

С этой целью была поставлена вторая серия опытов. У аксолотлей были ампутированы хвосты. Стадия регенерата к моменту операции была такая же, как и в первой серии опытов. Экстирпация спинного мозга производилась следующим образом: непосредственно за регенератом острыми маленькими ножницами производился надрез кожи. При помощи шпателя отсепаровывался лоскут кожи вместе с мышцами в виде прямоугольника. Отогнув лоскут, под лупой в проходящем свете производился продольный надрез по позвоночнику на 3 мм. При помощи пинцета и препаровальной иглы из позвоночного канала извлекался сегмент спинного мозга. Нарушались только самые мелкие кровеносные сосуды. Для того чтобы предотвратить регенерацию спинного мозга, в позвоночный канал на место спинного мозга вкладывался целлоидин соответствующей формы и размеров. Такое блокирование гарантирует чистоту опыта. Затем лоскут снова опускался и накладывалось 6 швов. Контролем служили две группы животных. У одной группы (6 аксолотлей) также отсепаровывался прямоугольный лоскут кожи с мышцами, однако позвоночник не разрушался. У другой группы (4 аксолотля) производилась только обычная ампутация хвоста. Животные перед операцией анестезировались.

Рис. 3

Наблюдения, произведенные над животными этой серии опытов, следующие: у опытного аксолотля № 2 и травматизированного контрольного к моменту операции длина регенерата равнялась 2 мм. Через 15 дней длина регенерата у опытного животного равнялась 2 мм., у контрольного — 7 мм; через 35 дней после операции у опытного животного длина регенерата равнялась 2 мм, у контрольного — 12 мм (рис. 3). У аксолотля № 3 и контрольного к моменту операции длина регенерата хвоста 3 мм. Через 10 дней длина регенерата у опытного животного 3 мм, у контрольного — 7 мм. Через 30 дней у опытного аксолотля длина регенерата 3 мм, у контрольного — 11 мм, Регенерат хвоста у контрольного нетравматизированного аксолотля равнялся 13 мм. Сравнивая длину регенерата у контрольного травматизированного аксолотля с контрольным нетравматизированным, мы отметили, что отставание его незначительно во всех случаях (1—2 мм). Очевидно, травма кожи и мышц в области, лежащей за регенератом, не может в какой-либо значительной мере затормозить регенерационный процесс.

Данные опытов этой серии совпадают с результатами первой серии. Экстирпация сегмента спинного мозга без значительного нарушения других тканей и кровеносных сосудов в подлежащей регенерату области приводит к прекращению регенерационного процесса.

Результаты опытов, полученные в первой и второй сериях, согла-

суются с данными Morgan, полученными на дождевом черве. Morgan ампутируя предварительно несколько передних сегментов, вырезал из вентрального переднего конца дождевого червя часть тела, содержавшего брюшную нервную цепочку. Таким образом, на переднем конце сохранялись все органы, кроме нервной цепочки. При отсутствии нервной цепочки на поверхности среза, голова не регенерирует. Однако на уровне, где кончается нервная цепочка, возникает новая голова, состоящая из нескольких сегментов. Morgan продолжил этот опыт следующим образом: он также вырезал кусок тела червя, содержащий нервную цепочку, но не от ампутационной поверхности, а отступя несколько сегментов. В результате из обеих раневых поверхностей, образовавшихся после операции, регенерировали две головы — большая и маленькая.

В связи с этими данными представилось интересным выяснить, обладают ли отдельные участки центральной нервной системы автономностью в своем влиянии на регенерационный процесс, а именно: может ли спинной мозг, прилежащий к регенерату, обусловить нормальный регенерационный процесс, если у него будет нарушена связь с другими частями центральной нервной системы.

Эту задачу ставила перед собой третья серия опытов.

У аксолотлей, у которых регенерат хвоста равнялся 2—3 мм, вышеописанным способом экстирпировался сегмент спинного мозга на расстоянии 20 мм от регенерата. Контрольным животным также наносилась травма, которая выражалась в том, что на таком же расстоянии от регенерата отсепаровывался лоскут кожи и мышц с последующим наложением швов. Кроме того, контролем служили аксолотли, у которых ампутация производилась одновременно, но травмы никакой не наносилось.

Результаты опытов третьей серии следующие: у аксолотлей, после экстирпации сегмента спинного мозга на расстоянии 20 мм от регенерата, регенерация прекращалась или сильно тормозилась. Так, у аксолотля № 31 и контрольных животных длина регенерата к моменту операции 3 мм; через 35 дней после операции у опытного аксолотля длина регенерата 3 мм, у травматизированного контрольного — 10 мм, у нетравматизированного контрольного — 12 мм; у аксолотля — 33 и контрольных ему животных к моменту операции длина регенерата 3 мм. Через 35 дней после операции у опытного аксолотля длина регенерата 4 мм, у травматизированного контрольного — 11 мм, у нетравматизированного — 12 мм. Всего было использовано 10 аксолотлей.

Таким образом, сегмент спинного мозга длиной 20 мм, прилежащий к регенерату хвоста, не может обусловить нормального регенерационного процесса, если связь его с другими частями центральной нервной системы будет нарушена.

Ввиду того что в этой серии опытов экстирпация сегмента спинного мозга производилась во всех случаях на одном и том же расстоянии от регенерата, остается неясным вопрос, имеет ли существенное значение расстояние от регенерата, на котором прерывается связь участка спинного мозга с остальной нервной системой. Этот вопрос явится предметом дальнейшего исследования.

Выводы

В настоящей работе был поставлен вопрос, может ли протекать нормально регенерационный процесс хвоста аксолотля, начавшийся в условиях связи с центральной нервной системой, если связь эта

будет нарушена. Нарушение связи регенерата с центральной нервной системой проводилось путем экстирпации сегмента спинного мозга в области, непосредственно прилежащей регенерату.

Опыты показывают, что связь с центральной нервной системой является необходимой не только для начала процесса, но и для последующего развития регенерата.

Экстирпация сегмента спинного мозга в подлежащей регенерату области, т. е. нарушение связи регенерата с центральной нервной системой, влечет за собой прекращение регенерационного процесса.

Травматизация тканей в результате операции не может в какой-либо значительной мере затормозить регенерационный процесс.

Участок спинного мозга в области, прилежащей регенерату, не может стимулировать регенерационный процесс, если связь первого с вышележащими частями центральной нервной системы будет нарушена.

ЛИТЕРАТУРА

Godlewski M. Anz. Akad. Krac. 1904.
Goldfarb A. Journ. of Experim. Zoology, 7, 1909; Arch. f. Entw. *32*, 1911.
Locateli P. Roux Arch. *114*, 1929.
Morgan T. Arch. Entw. mech. *14*, 1902.
Morgan T. and Davis B. Arch. Entw. mech. *15*, 1902.
Rubin R. Arch. Entw. mech. *16*, 1903.
Walter F. Arch. Entw. mech. *33*, 1912.
Weiss P. Arch micr. Anat. u. Entw. mech. *104*, 1925.
Wolf S. Festschr. f. R. Hertwig, *111*, 1910.

By R. L. BORSUK. RÔLE OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM IN REGENERATION OF TAIL IN AXOLOTL

SUMMARY

The question set in this paper is whether the regeneration of an axolotl tail inaugurated when there was a connection with the central nervous system may or may not continue normally after this connection is disturbed. The way to disturb it in the reported experiments was by extirpating a segment from the spinal cord in the region adjoining the regenerate.

The experiments have shown that this connection is indispensable not only at the start of the process but also for the further development of the regenerate. When in the region pertaining to the regenerate a segment has been extirpated from the spinal cord, thereby disturbing the communication with the central nervous system, the regeneration process will eventually cease.

No trauma of tissues, resulting from the operation, can delay the regeneration process to any significant extent.

The part of the spinal cord in the vicinity of the regenerate can no longer stimulate the regeneration process if the connection with the upper lying parts of the central nervous system is disturbed.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СОЮЗА ССР
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS
Отделение биологич. наук № 2, 1943 Classe des sciences biologiques

И. А. РАПОПОРТ

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЗАВИСИМОЙ ДИФЕРЕНЦИАЦИИ В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ ДВУКРЫЛЫХ

СООБЩЕНИЕ 2. ПРЕВРАЩЕНИЕ АНТЕННАЛЬНО-ГЛАЗНОГО КОМПЛЕКСА

Институт экспериментальной биологии Академии Наук СССР

Поступила 28.XI. 1940 г.

Если среднегрудной диск занимает первое место по сложности и разнообразию своих структурных производных среди всех зародышевых дисков груди и брюшка, то большая часть головы образуется из так называемого головного комплекса имагинальных дисков, появляющегося в виде впячивания глоточной области. Этот комплекс оформляется позже других дисков. По данным Chen, обособление его совпадает с 8—16 часами жизни личинки первого возраста. До 36—48 час. личиночного развития головной комплекс представляет единую структуру, с этого же периода начинается сегментация ее на два примордиума — глазной и антеннальный. Передний отдел комплекса развивается в антенны, а задний—в глаза,

Анализ характера диференциации головного комплекса имагинальных почек, как всякая попытка изучения морфогенеза в системе имагинальных зачатков, представляет общий интерес вследствие отсутствия сведений о пластичности и возможности превращений примордиального материала не только у Diptera, но и в других отрядах насекомых.

Не останавливаясь на большом количестве мутаций, затрагивающих только развитие глаз или только развитие антенн и имеющих сравнительно более поздний генезис, мы избрали два изменения, действие которых распространяется на самые ранние моменты формирования головного комплекса. Главным объектом послужила известная рецессивная мутация в четвертой хромосоме eyeless, а дополнительным — найденная нами аутосомная мутация с нестойким проявлением Ste (stalked eyes).

Мутация eyeless является одной из лучших в четвертой хромосоме. Первый аллеломорф ее был найден Hoge в 1914 г. С тех пор было обнаружено еще шесть независимых возникновений этого наследственного изменения. Некоторые из них отличаются от первого размером глаз, вариабильностью и плодовитостью самок, но есть и совершенно тождественные. Мутация многократно подвергалась специальному морфологическому исследованию. Richards и Furrow, Chen, Медведев и др. изучили разные стороны формирования глаза eyeless в индивидуальном развитии; Gutrie исследовал зависимость между размером глаз на правой и левой сторонах тела; Morgan провел большие опыты по селекции плюс и минус вариантов. Не-

сколько ранее сходные опыты были поставлены Little и Jones. Согласно точным измерениям величины глазных примордиумов в разных линиях, выполненным Медведевым, уже у 24-часовой личинки eyeless зачаток глаза значительно меньше, чем у дикого типа и, таким образом, отличие проявляется в онтогенезе очень рано, на стадии, когда примордиумы других глазных мутаций еще не отличимы от дикого типа. Eyeless, как и Met, свойственна очень большая вариабильность, от полного отсутствия органа до глаза из 400—500 фасеток. Изменения на правой стороне тела могут резко отличаться от характера отклонений на левой стороне.

Мы опишем четыре типа причинных морфогенетических зависимостей, доступных анализу в линии eyeless: образование меланических включений в полости тела, зависимость между образованием лишних челюстных щупиков и развитием глаза, а также формирование добавочной антенны вместо глаза. Далеко не все эти типы были замечены авторами, работавшими над eyeless, и нет анализа связи между всеми видами изменений.

Следует указать, что характер вариирующих отклонений в eyeless^{D}, доминантной мутации четвертой хромосомы иной, чем в линии eyeless.

Зависимость между редукцией глаз и меланическими включениями

При исследовании куколок, из которых не вылупились imago в культурах с очень сильным выражением eyeless, можно иногда найти крупные меланические включения у стенок пупария, а при вскрытии и внутри тела. Величина и количество таких включений сильно колеблются. Даже при поверхностном осмотре покровов тела у imago из таких культур также можно заметить темные включения под хитином, имеющие сходную гистологическую структуру и одинаковое, повидимому, происхождение с включениями у куколок. Включения встречаются в области головы, груди и брюшка; чаще всего в двух последних областях. Они могут лежать у самого хитина, резко бросаясь в глаза, или более глубоко, внутри полости тела, скрытые поверхностными тканями. Часто эти включения обнаруживаются внутри скютелюма, оцеллярной области на голове, на дорзальной или вентральной поверхности брюшка. Количество их варьирует от одного до десятков, хотя чаще всего встречается два — три включения. Они резче выражены при сильной редукции глаз и могут отсутствовать при более слабой. Такие включения, в клетках которых, особенно периферических, откладывается много черного пигмента, могут иметь сферическую, овальную, удлиненную и совершенно неправильную форму и не срастаются с окружающими тканями.

Они резче выражены у самых крупных мух, которые первыми вылупляются из неперенаселенных культур, т. е. развиваются в наиболее благоприятных условиях и отсутствуют в перенаселенных культурах и при позднем вылуплении. Следовательно, неблагоприятные условия развития, препятствующие проявлению мутации eyeless (у мух этой линии, развивавшихся в оптимальных условиях, сильнее всего редуцированы глаза), препятствуют также развитию меланических включений.

При ненаследственных изменениях величины и формы глаза, являющихся фенотипическими копиями eyeless, мы наблюдали подобные же, а иногда еще более выраженные образования. Они были описаны нами в 1938 г. для феноколий eyeless, вызванных соединениями

бора, но встречаются при таких же фенокопиях, индуцированных иными веществами. Этот новый тип изменений, не встречающийся в Met и имеющий, повидимому, большое биологическое значение, был нами описан для другой мутации, вызывающей сильную редукцию и исчезновение макрохет (split bristless), а также для двух аллеломорфов aristaless, мутации, которая сопряжена с сильной редукцией усиков. Внешние условия отражаются на развитии подобных меланических образований. Как было уже указано, степень развития

1 2 3 4

Рис. 1. Добавочный щупик при редукции глаза. Вид со стороны спины Мутация eyeless

Рис. 2. Утроенный щупик при редукции глаза. Вид сбоку. Мутация eyeless

Рис. 3, 4. Появление добавочных щупиков и оцеллей одновременно. Мутация eyeless

их в перенаселенных культурах eyeless отличается от неперенаселенных, в split bristlless они сильно развиваются, при низкой температуре (15°), достигая порой четверти или трети общего размера тела, и отсутствуют при температуре 25° С. Пользуясь этими и сходными данными, на изложении которых в этой работе нет возможности остановиться, можно утверждать, что закономерность, связывающая сильную редукцию какой-либо структуры с появлением меланических включений, остававшаяся до сих пор неописанной в литературе о мутациях, весьма распространена. Длительные опыты по отделению при помощи селекции eyeless от меланических включений, продолжавшиеся в течение двенадцати генераций, не привели к успеху. Последнее еще более увеличивает вероятность причинных отношений между обоими отклонениями. Неправильные, рваные очертания, грубость глаза, нарушение рядов фасеток и наличие разной величины включений свидетельствуют, что рано наступающее уменьшение зачатка, находящееся в зависимости от контакта с нервной системой, осуществилось не посредством равномерного уменьшения роста зачатка, а путем дезинтеграции и отделения от него разной величины частей.

Эти включения, вероятно, образуются не только из примордиального материала глаза но и из нервной ткани, так как зрительные ганглии также подвергаются дегенерации и распаду у особей eyeless.

Микроскопический анализ не обнаруживает во включениях никаких рудиментов внутренней структуры нормального глаза; значит, на тех ранних стадиях, задолго предшествующих сегментации головного комплекса, когда происходит отделение частей презумптивного материала глаза, детерминация еще не наступила и из материала, потерявшего связь с целыми индуцирующими центрами, развиваются структурно неоформленные образования с иным характером пигментации, не только сохранившие пролиферационную способность, но несомненно склонные порой к бластоматозному росту. Этот тип

изменения можно встретить только как редчайшее исключение в линиях дикого типа.

Зависимость между образованием глаз и щупиков

У части особей eyeless, совершенно лишенных глаз, может также отсутствовать максилярный щупик. При слабом выражении eyeless щупик никогда не исчезает. Иногда щупик редуцируется до маленького, почти незаметного рудимента. В этом заключается одна сторона зависимости между редукцией oculi и ротовыми придатками. Из нее можно сделать или тот вывод, что вопреки естественному предположению эти ротовые придатки формируются не из материала лабильного комплекса имагинальных дисков, а из материала головного комплекса или налицо морфогенетические зависимости между производными разных имагинальных дисков. Однако последним не исчерпывается связь между обоими органами, есть еще более значительная сторона, которая заключается в том, что при редукции глаза сильно увеличивается размер щупика, если он остается в единственном числе, или появляется несколько щупиков вместо одного (рис. 1). Обычно появление лишних щупиков сопровождает полное исчезновение глаз, но если с обеих сторон остались небольшие глазные рудименты, то лишние щупики развиваются на стороне, где рудимент меньше. Иногда щупик увеличивается в два-три раза или даже более по сравнению с нормой, но остается цельным. В других случаях он становится двойным или тройным, т. е. состоит из двух или трех лопастей, каждая из которых идентична с дистальной частью нормального щупика, соединенных внизу, напоминая развернутый веер. При двойственности щупика обе лопасти могут иметь одинаковый размер или одна может намного превосходить другую. Глубина расщепления сложных веерообразных щупиков сильно варьирует; в одних случаях расщепление их лишь только намечено в верхней части комплекса, в других они расщеплены до самого основания (рис. 2). Последний тип граничит с другим, при котором уже есть несколько обособленных структур, но помещающихся рядом. Еще один вариант, встречающийся весьма часто, заключается в том, что лишние щупики развиваются на большом расстоянии от нормальных (рис. 3 и 4). Если в других случаях возможно сомневаться в независимом возникновении двух щупиков, помещающихся в тесном соседстве, и рассматривать их как результат расщепления единой структуры, тем более, что такие расщепленные щупики действительно есть, то последняя категория, когда один щупик удален от другого очень большой прослойкой хитина, показывает, что лишние щупики могут возникать в линии eyeless совершенно независимо от нормальных или других добавочных ротовых придатков. В следующем разделе будет указано, что экстраоцелли появляются в области, которая соединяет глаз и ареал расположения нормальных оцеллей, т. е. в том месте, которое соответствует верхней части нормального глаза или той стороне его, которая примыкает к темени. В других частях, граничащих, например, с ротовым аппаратом или соответствующих центральной зоне нормального глаза, — оцелли не развиваются. Появление экстращупиков также ограничено определенной зоной, которая нигде не перекрывает ареал образования экстраоцеллей, хотя граничит с ним. Добавочные щупики появляются в нижней части глаза или в боковой области его, граничащей с ротовыми органами. Совпадение экстраструктур с нормальными структурами сопредельной формообразовательной

области составляет специфическую черту добавочных органов в линии eyeless.

Лишь в начале опытов, когда производился подсчет даже частых отклонений, было найдено более 7000 особей с экстращупиками. Считаясь с тем фактом, что и при других мутациях, вызывающих резкое уменьшение размера глаз, например, сильных Bar (неопубликованные данные), могут также появляться лишние щупики или исчезать нормальные, мы полагаем, что щупики образуются из глазного зачатка, т. е. происходят из головного, а не ротового комплекса имагинальных дисков, хотя составляют типическую принадлежность ротового аппарата. Исходя из той же гипотезы, которую приняли для объяснения происхождения экстраоцелей, мы полагаем, что часть презумптивного материала глаза, которая не образует фасетки в области oculi, благодаря нарушению зрительного нерва, детерминируется в области, граничащей с ротовым аппаратом, в добавочные щупики. В норме же щупики образуются из другой части того же диска.

Подчеркиваем еще раз, что при умеренном развитии глаза лишние щупики так же, как и лишние оцелли, не образуются, при полной же редукции глаза иногда возникают одновременно и экстращупики и экстраоцелли. Большой интерес представляют отношения симметрии экстращупиков. Соединенные двойные образования имеют общую плоскость симметрии. Правильные щупики, входящие в двойное симметрическое образование, могут соединяться между собой в различных плоскостях. При полном разделении щупики не имеют общей плоскости симметрии. В триплетах два образования могут иметь общую, а третий — иную плоскость симметрии.

Зависимость между образованием глаз и лишних оцеллей

В высшей степени любопытное превращение материала в области головы, встречавшееся десятки тысяч раз, заключается в том, что при отсутствии сложного глаза появляется одна, две, три, шесть, девять и более лишних оцеллей на стороне исчезнувшего глаза. Примеры разных видов этого превращения демонстрируют рис. 5—15. Лишние оцелли имеют такую же окраску как нормальные, а при гомозиготности линии по какому-нибудь гену, влияющему на окраску нормальных оцеллей, например, white-ocelli добавочные оцелли по окраске не отличаются от основных.

Очень часто экстраоцелли имеют такой же размер, как и нормальные, но они могут также быть в два или три раза крупнее. Предварительное исследование показало, что лишние оцелли имеют такую же сложную внутреннюю структуру, как и нормальные теменные глазки.

Лишние оцелли, образующиеся при исчезновении или крайней степени уменьшения глаза, непременно находятся в связи с теменем в тех областях нормального глаза, которые граничат с теменной. Если остается даже самый небольшой рудимент материала сложного глаза не на границе с теменем, а в средине области сложного глаза, то он имеет ясный характер oculi без всяких переходов, даже в тех случаях, когда ограничивается 2—3 фасетками или небольшим пигментированным пятном. Следовательно, условием образования лишних оцеллей является не наличие небольшого рудимента, ибо такой рудимент, сведенный лишь к небольшой группе пигментных клеток, может все-таки иметь характер пигментных образований

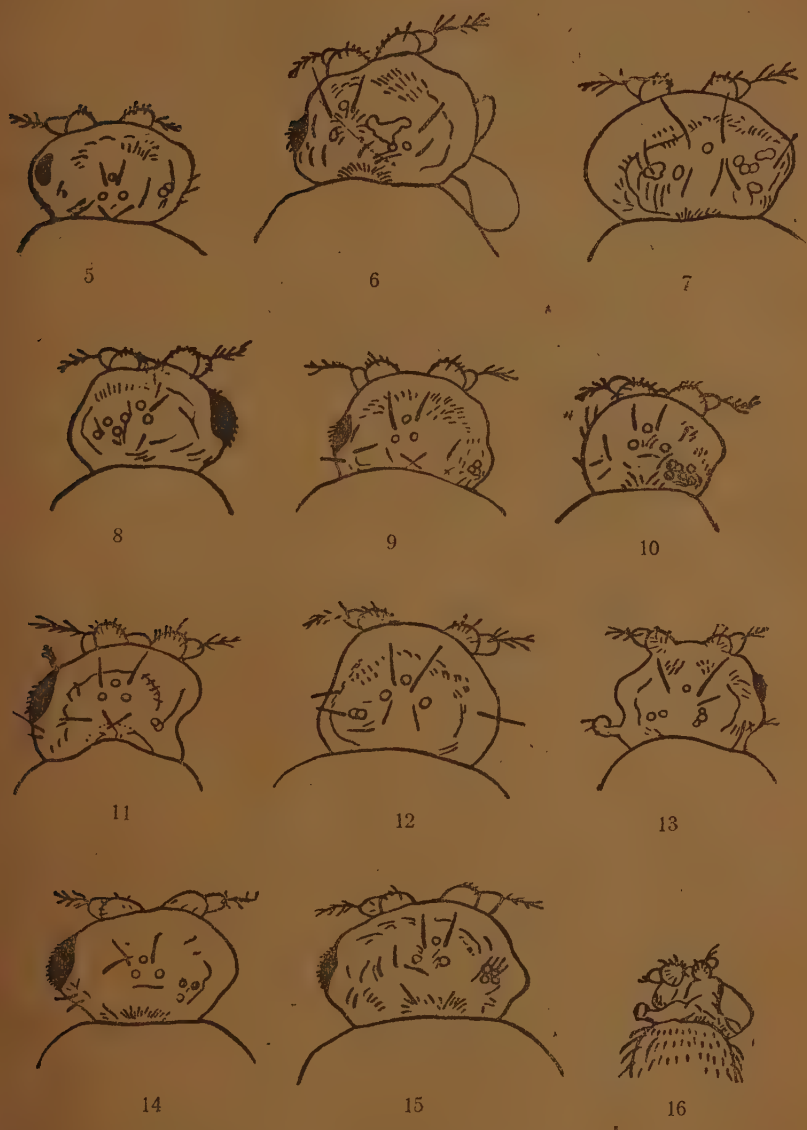


Рис. 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14. 15. Разные количества добавочных оцеллей при редукции глаз и мутации eyeless. На рисунках 8, 9, 14 добавочные оцелли составляют такие же группы, как и нормальные Рис. 13. Появление добавочных щупиков и оцеллей одновременно. Мутация eyeless. Рис. 16. Мутация stalked eyes. Слева глаз уменьшен, а антенна увеличена в два раза по сравнению с нормой

сложного глаза, а не теменного,— а положение подобного рудимента.

Только тогда, когда он находится в соприкосновении с теменной областью, происходит формирование оцеллей. У нашего объекта, как и у всех Diptera, есть 3 оцелли, из которых одна расположена впереди, а две позади, составляя вместе углы треугольника. В некоторых наследственных структурах оцелли могут полностью отсутствовать (ocelliless) или редуцироваться до двух (quadruple-Bar). В высшей степени интересна закономерность, которой подчиняется образование экстраоцеллей. Часто они также образуются тройками, разделенными таким же хитиновым пространством, как в норме, или непосредственно соприкасаясь одна с другой. При образовании лишних оцеллей в числе больше трех, распространены числа кратные трем — шесть, девять и т. д. Встречающиеся крупные одиночные оцелли по объему материала соответствуют трем или более нормальным теменным глазкам. Может быть в нормальном процессе эмбрионального развития двукрылых оцелли закладываются в виде одного общего образования, которое лишь затем сегментируется на три отдельности. Таким образом, лишние оцелли могут отличаться не только структурой общей с нормальными, но и тройственностью экстракомплексов. Даже в тех сравнительно редких случаях, когда образуется очень много оцеллярного материала (рис. 6 и 7), имеющего вид разной длины лент с неровными очертаниями, они сегментированы на отдельности, лежащие не всегда в одной плоскости.

Многочисленные оцелли, со слившейся воедино роговицей, встречающиеся у некоторых Miriapoda, например, у Scutigera, можно истолковать в свете этих данных не как результат слияния отдельных оцеллей на определенной стадии эмриогенеза, что обычно принимается, а наоборот, как следствие неразделения общего по происхождению материала оцеллей на отдельные элементы.

Между прочим, как показала находка на одном из срезов, далеко не все сформировавшиеся экстраоцелли эвагинируются, некоторые из них остаются внутри под покровом хитина.

Сравнительно большая эволюционная стойкость oculi, при вариациях oculi, которые вовсе исчезают у некоторых видов (когда они могут, кстати, иногда замещаться особыми боковыми оцеллями), наводила на мысль, что простые теменные глаза образуются совсем из другого зачатка, чем сложные боковые глаза, между тем наши данные свидетельствуют в пользу противоположного: оцелли и околооцеллярный материал формируются в норме из определенной области того же диска, из которого создаются oculi. Все изложенные данные позволяют заключить, что из презумптивного материала сложного глаза, который может совсем элиминироваться в линии eyeless, закономерно образуется другой орган — теменные глазки. К сожалению, нет точных сведений о динамике формирования оцеллей у двукрылых, но если бы у последних, так же как у перепончатокрылых, теменные глазки образовывались сравнительно поздно, как это явствует из прекрасного исследования Редикорцева, то мы здесь описали бы переход определенной структуры в другую, формирующуюся более поздно.

Превращение глаза в добавочную антенну

В исследованном материале удалось обнаружить 63 случая появления лишней антенны. Следовательно, это изменение происходит

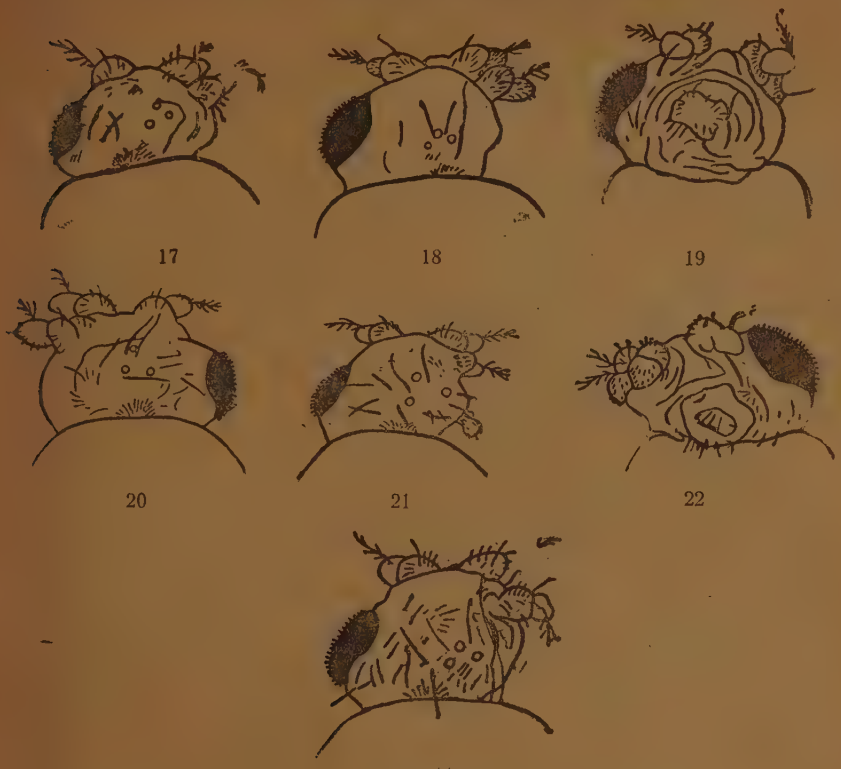


Рис. 17, 18, 20, 21, 23. Превращение презумптивного материала глаза в антенну. Вид со стороны спины
Рис. 19, 22. Другие случаи отсутствия глаза при редупликации антенны. Вид со стороны брюшка

несравненно реже, чем три других превращения, описанные в предыдущих разделах. Изображение этих добавочных структур, как правило появляющихся лишь с одной стороны глаза (мы отметили единственный случай возникновения четырех антенн, по две с каждой стороны, у особи eyeless), можно видеть на рис. 17—23.

Доказательством превращения глазного материала в антеннальный служит тот факт, что у всех особей с экстраантеннами на той же стороне тела полностью отсутствовал глаз. Мы не встретили ни одного исключения. Между тем при независимом образовании из другого материала экстраантенн в наблюдавшейся мутационной линии, последние должны были бы сочетаться с самыми различными степенями редукции глаза. Внешний вид добавочных антенн отличался значительной однотипностью. В 54 случаях они имели такой же размер, как и нормальные, в остальных были несколько меньше, что, может быть, зависело от неполной эвагинации базального сегмента антенны, так как дистальные части антенны были уменьшены только в трех случаях (рис. 21). Добавочные антенны имеют нормально разветвленную аристу. Два членика антенны, базальный и второй несут все чувствительные органы нормальной антенны. Мы нашли в трех случаях внутри головы, непо-

средственно над ротовым аппаратом и просвечивающие сквозь хитин совершенно сформированные неэвагинировавшие усики. Нормальная и добавочная антенны находятся рядом, но не срастаются одна с другой в проксимальной части, как это характерно для многих добавочных щупиков. Когда же такое срастание происходит, то обе антенны представляют как бы зеркальные изображения. Однако в 46 случаях антенны были отделены одна от другой и имели одинаковые, особые, а не общие плоскости симметрии. Для объяснения различий в отношении плоскостей симметрии экстраантенн следует учесть как особенности разделения головного комплекса, так и механизм действия гена eyeless. Первоначально единый зачаток глаза и антенны, отделяющийся в виде мешочка от фарингеальной области, сегментируется на две, незначительно различающиеся объемом части, соединенные двуслойным мостиком, клетки которого не делятся, в то время как по обе стороны от него происходит усиленная пролиферация.

Как показали Richards и Furrow, а также Derrick в линии eyeless происходит сильное уменьшение, а иногда и полное исчезновение наружного ганглия. Не исключено, что уменьшение оптического тракта является самостоятельным и независимым результатом действия гена, влекущим как следствие уменьшение или дезинтеграцию глазного гистобласта, по отношению к которому оптический тракт является индуктором. Однако появление экстраантенн мы склонны скорее расценивать как признак чрезвычайно раннего нарушения координации и соответствия в развитии частей глаза, которые происходят из глазного примордиума, с одной стороны, и из нервной системы — с другой, и считаем ее первичной причиной уменьшения или отсутствия зрительного аппарата. С этой точки зрения уменьшение зрительного нерва не является автономным изменением, влекущим за собой уменьшение и распад примордиального глазного материала, зависимость обоюдосторонняя — оптический тракт не может достаточно развиться и диференцироваться без достаточного контакта с примордиальным материалом глазной почки. Только ранним нарушением координации можно объяснить неразделение головного комплекса на две части и контакт двойного образования потенциального глаза и усика с каким-то индуцирующим центром, который в норме связан лишь с передней половиной головного комплекса. Лишь подобный контакт способен объяснить появление двойной антенны, соединенной в проксимальной части, или разделенной, но имеющей общую плоскость симметрии (рис. 19). Несомненно, что в момент детерминации материал таких головных комплексов представляет общую систему. Не то с удвоенными антеннами, отличающимися собственными плоскостями симметрии. Комплексы, из которых развились такие антенны, вероятно уже были более разделенными к моменту установления связи индуцирующего антенну, вероятно нервного по происхождению, центра с обеими (а не с одной, как в норме) частями головного комплекса. Поэтому каждая из половинок комплекса была детерминирована как самостоятельная система. Степень дихотомии органа к моменту его детерминации определяет наличие одной общей или собственных плоскостей симметрии. Хотя при образовании антенн с общей плоскостью симметрии детерминация диска, может быть, происходит позже, чем при образовании двух антенн с раздельными плоскостями симметрии, все же она относится к весьма ранней стадии эмбриогенеза, так как презумптивный материал глаза преобразуется в совершенно безупречный по всем деталям структуры орган. Про-

межуточные образования, характерные для некоторых метаморфоз в линии Met, здесь не встречаются. Повидимому, зачаток глаза бывает совершенно индиферентен к моменту его контакта с индуцирующим центром антенны. Совершенство и законченность структуры экстраантенн указывают на огромную роль индукции, которая еще не детерминирует, разумеется, всех деталей строения органа, но составляет начало цепи реакций, большинство которых имеет характер так называемой независимой диференциации, приводящих к появлению мельчайших структурных и физиологических деталей, и исключает автономные и неавтономные реакции, которые в это же время происходят в других системах зародыша.

Для объяснения перехода одного органа в другой, например, при гомейозисах, выдвигалась не индукция, а другая причина — изменение времени развития зачатка. С этой точки зрения, если имеется орган *А* и орган *Б*, из которых первый развивается раньше, то изменение начала и скорости развития второго органа до уровня первого приведет также к частичному превращению структуры *Б* в структуру *А*. Это можно было бы объяснить таким образом, что вещества, детерминирующие структуру *А*, не действуют на *Б* только потому, что последняя еще не достигла критической чувствительной фазы.

Хотя изменение темпа развития зачатков имеет место при гомейозисах, как показала, например, Балкашина, однако нам кажется, что оно является вторичным явлением, уже вытекающим из происшедшего определения органа. Условием развития зачатка в известном направлении является его индукция, как показывает характер превращения материала глаза в антенну. Если бы это превращение зависело не от контакта с каким-то индуцирующим субстратом, а от простого изменения скорости развития, то добавочные антенны должны были образовываться не только в районе расположения нормальных антенн, но и в центре ареала, соответствующего нормальному глазу, а также должны были бы появиться промежуточные структуры, так как eyeless, так же как и гомейозисы, дает непрерывный ряд количественных переходов в развитии глазного рудимента. Между тем экстраантенны не выходят из антеннального района и появляются в виде совершенного органа или не появляются совсем.

Зависимость между величиной глаза и антенны

Способность материала глаза превращаться в антенну находит также другое выражение. Материал глаза не полностью воплощается в антенне, а лишь частично: глаз уменьшается, и в меру его уменьшения растет объем усика. Подобная зависимость не характерна для eyeless, в которой перешнуровка головного комплекса имагинальных дисков при образовании лишней антенны происходит там же, где нормально. Она не свойственна также огромному большинству мутаций редукторов глаза, имеющих поздний генезис, вызываемых генами, действие которых осуществляется после разделения головного комплекса и детерминации его передней половины. Однако есть единичные исключения, ранние нарушения сегментации головного комплекса. По нашим данным, к ним относится мутация aristopedia у D. funebris, найденная Тиняковым, в которой увеличение усика всегда сопровождается уменьшением глаза, и рецессивная мутация stalked eyes у D. melanogaster. Последняя спонтанная мутация была найдена нами в 1938 г. и отличалась сильной асимметрией

проявления, что является, как указывалось, очень важным при анализе генетическим методом закономерностей индивидуального развития. Изображение типичного проявления stalked eyes можно видеть на рис. 16. На особом отростке, своеобразном стебельке, развился глаз, имеющий круглую форму, и в данном случае около 90 фасеток, а вообще от 10 до 500 вместо нормальных 700 глазков oculi. Одновременно почти вдвое в данном случае и несколько менее при не столь резкой редукции фасеток увеличен объем антенны. Нормальная правая сторона головы является безупречным контролем. Асимметрическое выражение было правилом в этой линии, отличавшейся вообще очень низким процентом проявления мутационного признака и нормальной жизнеспособностью. За все время работы с ней было замечено только четыре случая симметрического проявления мутации.

Нам кажется, что количественное соответствие между уменьшением oculi и увеличением усиков позволяет утверждать, что в stalked eyes происходит превращение презумптивного материала одного производного головного комплекса в другое. Налицо не только превращение определенного зачатка внутри диска в структуру, которая в норме развивается из другой части этого же диска, как, например, в некоторых метаморфозах Met, но превращение материала одного диска в материал другого, с которым он связан до известного отрезка онтогенеза. Лишь при помощи особого исследования можно ответить на вопрос о потенциях к превращению глазного материала в антеннальный у тех насекомых, у которых нет головного комплекса и зачатки обоих органов с самого начала закладываются как обособленные имагинальные диски.

Весьма любопытно, что в отряде Diptera, у Diopsidae Tryparlidae, Platystomadiae, так называемых стебельчатоглазых, глаз развивается на конце отростка, весьма похожего, но несравненно более длинного, чем в линии stalked eyes. Может быть, этот несущий глаз отросток развился в филогенезе стебельчатоглазых из мутации подобной ste. Приспособительное значение увеличения поля зрения очень велико для многих групп насекомых, в частности, для хищных, и такая мутация могла закрепиться и преобразоваться путем естественного подбора новых мутаций и модификаторов в известном направлении.

Появление антенн в линии stalked eyes, превосходящих нормальный орган в два раза по объему, снова демонстрирует значение обособления для детерминации органа. Масса эмбрионального материала, в два раза превосходящая массу нормального зачатка определенного органа, способна образовать гигантский орган, если она не разделена на части к моменту детерминации. Несмотря на резкое увеличение поля, морфогенез протекает без отклонений. При неполном или более позднем разделении массы презумптивного материала появляются две структуры, зеркальные одна по отношению к другой. Наконец, при полном разделении презумптивного материала развивается из той же массы зачатка два одинаковых органа, имеющих собственные нормальные оси симметрии.

Обсуждение

Ввиду наглядности превращений частей головного комплекса, демонстрирующих несомненную возможность и значение немозаичных процессов в развитии Muscidae, мы остановимся в этом разделе лишь на двух вопросах.

Первый вопрос касается особенностей действия гена eyeless. Можно пользоваться двумя методами при определении времени действия гена. Одним из них является гистологическое исследование, а другим — определение чувствительного периода действия гена при помощи какого-нибудь раздражителя. Наиболее объективные результаты дает применение обоих, так как гистологический метод анализа обычно вскрывает уже последствия процесса, перелом в развитии структуры не сразу находит внешнее выражение, на определениях же чувствительного периода несомненно отражается специфика и сила употребляемого в опыте раздражителя. Для анализа мутации eyeless были применены оба способа анализа, давшие хорошо согласующиеся результаты. По Chen и Медведеву, уменьшение имагинального диска eyeless становится заметным очень рано, непосредственно к моменту обособления имагинального комплекса. По определению чувствительного периода действия eyeless, произведенному Бароном при помощи температурного воздействия, оказалось, что критическая фаза приходится на первые полтора дня после оплодотворения, т. е. является одним из самых ранних чувствительных периодов, известных для какой-либо мутации. Эти сведения, доказывающие чрезвычайно раннее действие гена, совпадающее с периодом развития эмбриона в яйце и началом метаморфоза, позволяют понять исключительную радикальность переходов, которые претерпевают презумптивные зачатки разных частей в этой мутации. К моменту начала действия гена eyeless, а также вероятно и гена stalked eyes материал диска еще не детерминирован, одни части головного комплекса еще способны превращаться в другие, заменять утерянные части и образовывать лишние структуры.

Второй вопрос касается появления экстра-структур в eyeless. Оно несомненно зависит от нарушения нормальной индукции. Согласно Richards и Furrow, у особей из этой линии сильно уменьшен или исчезает наружный зрительный ганглий и сильно изменяются внутренний и средний ганглии. Ганглии же являются важной частью системы, образующей глаз, и их изменение или отсутствие дает возможность недетерминированному материалу глаза или дезинтегрирующимся частям его войти в соприкосновение с другими индуцирующими центрами. Мощность источников индукции, как показывает, например, образование лишних антенн, лишних оцеллей и т. д., весьма велика. Хотя в норме соответствующий центр индуцирует только одну структуру, но потенциально способен детерминировать два, три или даже более совершенно законченных комплекса. Любопытно, что в экспериментах по индукции у позвоночных можно веществом губы бластопоры зародыша индуцировать несколько систем осевых органов. При органообразовании у насекомых лимитирующим фактором является скорее масса формативного материала, чем мощность источника индукции.

Если в первом сообщении были описаны разнообразные превращения презумптивного материала, возможные внутри системы диска, то настоящая работа доказывает также способность материала одного имагинального диска становиться частью другого. Она свидетельствует об относительности выводов, получаемых путем применения искусственных дефектов для анализа многоэтапного процесса, каким является детерминация, в особенности в тех группах животного царства, которые характеризуются ранним наступлением ее первых стадий. Исключение больших областей зародышевого материала яйца двукрылых, произведенные Reith, Pauli и другими исследователями при помощи прижиганий, проколов и перешнуровок,

не вскрыли пластичности и способности к замещению, имеющиеся на этих и даже более поздних стадиях не только в пределах одного примордиума, но даже между несколькими соседними имагинальными дисками.

By I. A. RAPOPORT. GENETIC ANALYSIS OF DEPENDENT DIFFERENTIATION IN THE EMBRYOGENESIS OF DIPTERA

II. TRANSFORMATION OF THE ANTENNA-EYE COMPLEX

Institute of experimental biology, Academy of sciences of the USSR

SUMMARY

We made a study of several types of radical changes in the fate of the eye primordia in the mutant lines «eyeless» and «stalked eyes». In the bodies of flies with eyes greatly reduced in size there were found melanotic inclusions, the result of the degeneration of undifferentiated eye material.

Extensive material was employed in studying the ability of eye primordia to develop into extra maxillary feelers, into appendages of the oral apparatus. The shape, symmetry and place of formation of the extra structures are described in the present paper.

A study was also made of the ability of the eye primordia to develop into parietal eyes. A correlation was found to exist between the presence of such ocelli and the absence of compound eyes. The extra ocelli are located either in the parietal region or adjacent to it.

Dozens of cases are described of the transformation of eye primordia into antennae. When an extra antenna is formed, the eye on that side entirely disappears. It was established that such a transformation is caused by induction and not by a change in the time and rate of development of the rudiment.

Cases are also described of an increase in the size of one of the antennae accompanied by a reduction in the size of the corresponding eye to a stalked rudiment in the line «stalked eyes». There was found to be some similarity between these mutants and stalked-eyed Diptera.

The exceptional plasticity of the imaginal buds in the line «eye'es» may be ascribed to the very early sensitive period preceding the determination of the rudiments. On the basis of all the data obtained it is concluded that the sources of induction are very potent.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СОЮЗА ССР
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS
Отделение биологич. наук № 2, 1943 Classe des sciences biologiques

Л. Г. ЛЕЙБСОН и Р. С. ЛЕЙБСОН

НЕРВНАЯ И ГУМОРАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ САХАРА В КРОВИ В ПРОЦЕССЕ ОНТОГЕНЕЗА

СООБЩЕНИЕ I. О СОДЕРЖАНИИ САХАРА В КРОВИ У КУРИНЫХ ЭМБРИОНОВ И ЦЫПЛЯТ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Научно-исследовательский институт эволюционной физиологии и патологии высшей нервной деятельности им. акад. И. П. Павлова (директор — акад. Л. А. Орбели), село Павлово, Ленинградской области

Поступила 23.I. 1941

Одной из замечательных особенностей высоко организованных живых существ является их способность сохранять постоянство физических и химических свойств, присущих их внутренней среде. К числу таких свойств относится и определенное содержание сахара в крови. Известно, что содержание это колеблется в узких, свойственных каждому виду, пределах. Подобное постоянство возможно лишь благодаря взаимодействию в организме целого ряда факторов как нервной, так и гуморальной природы. Исследования последних десятилетий в большой мере расширили наши представления об этих факторах, но в то же время с еще большей отчетливостью обнаружили чрезвычайную сложность их влияний и взаимной связи.

Эволюционный принцип, с успехом применяемый в последние годы в лабораториях акад. Л. А. Орбели и в других при решении различных физиологических задач, мог бы и в рассматриваемой области значительно углубить наши знания.

Изучение нервной и гуморальной регуляции содержания сахара в крови в процессе онтогенеза неизбежно связано с исследованием и других сторон регуляции углеводного обмена развивающегося организма. Однако в настоящей серии работ эти стороны будут экспериментально освещены лишь постольку, поскольку это будет необходимо для разработки изучаемой проблемы.

Первое сообщение посвящено результатам изучения нормального уровня гликемии в эмбриональном и раннем постнатальном периоде. В качестве объекта исследования мы избрали кур — объект, достаточно удобный с различных точек зрения.

Нас интересовало: 1) на какой стадии онтогенеза уровень сахара в крови у различных особей настолько близок, что можно говорить об известном его постоянстве, и 2) как этот уровень смещается в процессе развития.

В литературе имеется несколько работ, содержащих сведения о гликемии у кур до и после вылупления. Так, Hanan сообщает, что у исследованных им нескольких эмбрионов 14—16 дней содержание сахара в крови колебалось от 200 до 300 мг%. Эти величины гораздо больше тех, которые приводятся для взрослых

кур (Saito и Katsujama, Scheunert и Pelchzim). Число случаев, приводимых Hanan, весьма незначительно и примененная им методика представляется нам не вполне безупречной. Данные его, однако, находят косвенное подтверждение в работе Riddle и Honeywell, которые нашли у эмбрионов голубей также большее содержание сахара в крови, чем у взрослых птиц.

В противоположность этим авторам Владимиров и Шмидт и Владимиров пришли к заключению, что уровень гликемии у кур в эмбриональном периоде ниже, чем после вылупления. Они обнаружили далее, что уровень этот у различных особей одного и того же возраста варьирует незначительно и что на протяжении изученного ими периода инкубации, а именно, с 9-го дня и позже, он не претерпевает существенных изменений; лишь непосредственно перед вылуплением происходит подъем содержания сахара в крови. Приводимый этими авторами экспериментальный материал более обширен, чем в работах предыдущих авторов, и применявшаяся ими методика более совершенна.

Выводы Владимирова и Шмидта подтверждаются в основном сообщением Zorn и Dalton. Эти авторы, однако, изучая гликемию в те же сроки, нашли, что уже в 16 дней уровень гликемии у эмбрионов становится отчетливо выше, чем в предыдущие дни; дальнейший резкий подъем происходит в период вылупления. Огородний не мог обнаружить каких-либо изменений содержания сахара в крови с возрастом эмбрионов; в пределах же одного дня инкубации, по его словам, уровень гликемии у различных эмбрионов варьирует больше, чем это наблюдал Владимиров. Никакого цифрового материала Огородний в своей работе не приводит.

Таким образом, вопрос о содержании сахара в крови у куриных эмбрионов в отношении ряда интересующих нас подробностей представлялся нам не вполне ясным. Это побудило нас вновь подвергнуть вопрос тщательному изучению; это было необходимо и для решения дальнейших намеченных нами задач.

Что касается изменений гликемии у кур в постнатальном периоде развития, то и по этому вопросу литературные сведения немногочисленны. Поэтому мы распространили наши наблюдения и за пределы инкубации.

Методика

Опыты производились нами на эмбрионах и цыплятах породы «белый леггорн». Для инкубации мы пользовались инкубаторами завода «Спартак» типа «И. К. 1» на 154 яйца, керосиновый нагрев в которых у нас был заменен электрическим. Регуляция температуры осуществлялась при помощи реле, изменявшего силу тока в нагревательном элементе и приводившего в действие, при помощи включенного в цепь электромагнита, заслонку выходного отверстия. Температура поддерживалась нами на протяжении инкубаций в пределах 38.5—39,5° С.

Кровь для анализа бралась у зародыша из желточной артерии или одной из ее ветвей. Техника взятия крови применялась следующая. Яйцо помещалось пугой вверх в яйцевидной формы сосудик, заполненный ватой и погруженный в теплую водяную баню. Скорлупа над пугой и чуть-чуть ниже ее осторожно удалялась. Подскорлупная пленка отделялась от подлежащих частей яйца, по возможности без повреждения сосудистой сети. Затем отыскивалась и отпрепаровывалась артерия. При помощи тонкой нити она оттягивалась, обсушивалась фильтровальной бумажкой и помещалась на подставленное часовое стеклышко. Сосуд быстро надрезался, и собранная на часовом стеклышке кровь подвергалась анализу.

В более поздних опытах мы несколько видоизменили технику отыскивания сосуда, а именно, мы предварительно подвергали целое яйцо овоскопированию, отмечали примерное расположение артерии, удаляли в этом месте скорлупу и подскорлупную пленку и обнажали сосуд. Этот способ, в особенности применимый к эмбрионам старшего возраста, значительно сокращает время, затрачиваемое на добывание крови, и уменьшает возможность травматизации эмбриона.

Во избежание свертывания крови, в последние дни инкубации, на стеклышко предварительно насыпалось несколько крупинок гепарина.

Количественное определение сахара производилось по методу Hagedorn — Iensen.

Нам удавалось получать кровь для анализа у эмбрионов, начиная с 7 дней инкубаций. Однако количество крови, добываемой в этом возрасте, незначительно, и анализ производился либо в 0,02, либо в 0,05 мг. У эмбрионов 8 дней удавалось получать примерно 0,05 мг крови; у 9-дневных эмбрионов — около 0,1 мг, а в последующие дни определение, как правило, производилось в двух полных параллельных пробат. При анализе малых количеств крови мы, как и Владимиров, брали соответственно уменьшенное количество реактивов. Предварительное испытание мето-

дики определения сахара в этих неполных пробах путем сравнения с применяемой обыкновенно дало хорошие результаты.

Перед самым вылуплением кровь часто не удавалось получить, вследствие облитерации желточных сосудов. У цыплят в самом раннем возрасте кровь бралась путем надреза шейных сосудов (обычно яремной вены). У цыплят постарше, как и у кур, кровь бралась из подкрыльцовой вены.

Экспериментальные данные

Результаты определения содержания сахара в крови у 228 эмбрионов отображены нами графически на рис. 1 и подытожены в таблице 1[1]. Под днями инкубации мы и здесь и в дальнейшем понимаем число полных дней, протекших с момента закладки в инкубатор.

Таблица 1

Число дней инкубации	Количество обследованных эмбрионов	Среднеарифметическое содержание сахара в крови (в мг%)	Среднее отклонение	Число дней инкубации	Количество обследованных эмбрионов	Среднеарифметическое содержание сахара в крови (в мг%)	Среднее отклонение
7	39	115	± 10	17	16	143	± 6
8	15	122	± 4	18	15	146	± 9
9	17	127	± 8	19	12	156	± 8
10	16	130	± 5	20	5	161	± 7
11	29	131	± 8	После вылупления			
12	12	133	± 7				
13	6	135	± 3	0 дней	9	173	± 10
14	11	141	± 5	1 сутки (не кормленные)	11	176	± 15
15	10	138	± 6	2 дня (кормленные)	13	191	± 12
16	17	147	± 10				

Обратимся, прежде всего, к столбцу четвертому этой таблицы. Приведенные здесь величины отражают размах колебаний гликемии у отдельных особей около какого-то среднего, типичного для данной возрастной группы, содержания сахара в крови. Как видно, эти индивидуальные колебания не велики. Они, примерно, того же порядка, что приходится наблюдать и у вполне развитых птиц. Какой-либо зависимости степени вариирования от стадии инкубации подметить не удается: зародыши ранних сроков развития отличаются между собой по содержанию у них сахара в крови примерно в той же мере, что и более зрелые. Несколько большая величина среднего отклонения у семидневных эмбрионов по сравнению с вычисленной для ближайших дней легко могла бы быть объяснена большей трудностью добывания крови и анализом ее в неполной пробе; однако такие же средние отклонения встречаются и в более позднем возрасте.

О том, что размах индивидуальных колебаний гликемии в течение изученного нами периода инкубации не велик, свидетельствует также рис. 1. Как видно, все точки лежат недалеко от линии, проведенной — в несколько сглаженном виде — через средние арифметические, вычисленные для каждой возрастной группы. Лишь какие-

[1] Приводимый в данном сообщении материал собран в течение инкубационных сезонов 1938—1940 гг.

нибудь девять точек из 228 оказались отброшенными значительно книзу. Надо полагать, что в этих случаях мы натолкнулись на каких-то ненормальных по своему развитию эмбрионов, которые, конечно, встречаются при любой инкубации. Во всяком случае эти немногие величины настолько атипичны, что при обработке нашего материала мы можем их с полным правом игнорировать.

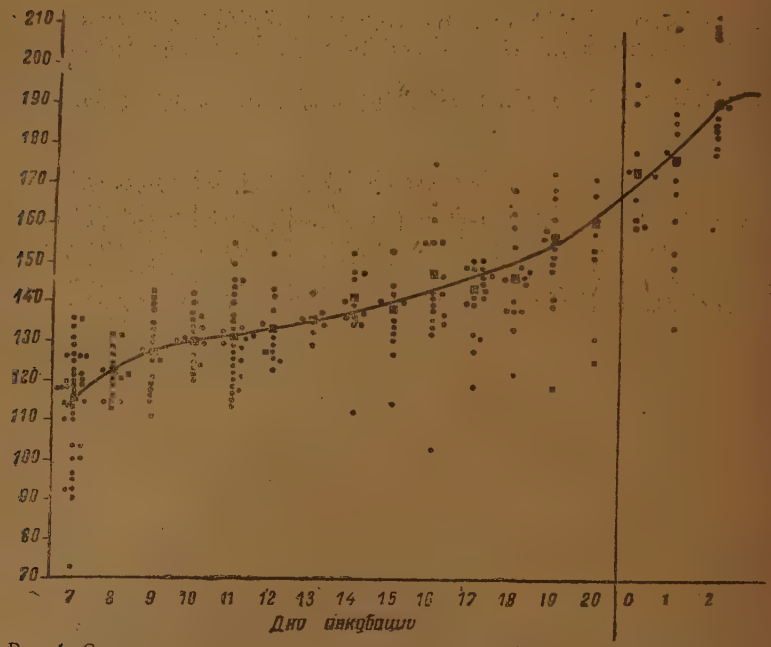


Рис. 1. Содержание сахара в крови у куриных эмбрионов в различные дни инкубации

На оси абсцисс нанесены дни инкубации; на оси ординат — содержание сахара в крови в мг%. Точками обозначены результаты определения сахара в крови у отдельных эмбрионов; квадратами — средние арифметические, вычисленные для данного возраста

Таким образом, собранные нами данные говорят о значительном постоянстве гликемии у куриных эмбрионов семи дней и старше.

До сих пор мы совершенно не касались абсолютных величин гликемии в различные дни инкубации. Нам надлежит, следовательно, рассмотреть уровень содержания сахара в крови в зависимости от возраста эмбрионов.

Как показывает табл. 1, а в более наглядной форме рис. 1, уровень гликемии, по мере развития эмбриона, повышается. Повышение это носит, однако, не совсем равномерный характер. С 7 до 9 дней мы наблюдаем несколько более крутой подъем. Затем, в ближайшие три дня, нарастание гликемии как бы замедляется; после 13 дней подъем опять становится более заметен. К концу же инкубации уровень гликемии особенно круто устремляется вверх. Это крутое повышение содержания сахара в крови продолжается в течение первых двух дней постэмбрионального существования. После этого срока гликемия устанавливается на окончательном, максимальном уровне.

Какого-либо заметного сдвига в уровне гликемии в течение первых недель жизни цыплят отметить не удается (табл. 2). У цыплят 5—6 недель содержание сахара в крови немного снижается. Однако и в этом возрасте гликемия несколько выше, чем у взрослых кур. Так, по нашим данным, уровень содержания сахара у последних равен примерно 150—160 мг%. Каким образом в ходе постэмбрионального развития достигаются эти величины, происходит ли уменьшение гликемии постепенно или в определенные сроки уровень ее снижается более круто,— это требует выяснения. В данном сообщении мы касаемся лишь эмбрионального и раннего постэмбрионального периодов.

Таблица 2

Содержание сахара в крови у цыплят различного возраста

Возраст	Количество исследованных цыплят	Среднеарифметическое содержание сахара в крови (в мг%)	Среднее отклонение
До 1 недели (от 2-х дней)	29	195	±12
От 1 до 2 недель	31	190	± 9
» 2 » 3 »	21	190	±11
» 3 » 4 »	16	188	± 8
» 4 » 5 »	5	199	± 9
» 5 » 6 »	11	173	± 9
» 6 » 7 »	22	182	±14

Обсуждение результатов

Приведенный нами экспериментальный материал дает возможность ответить на два поставленных вопроса.

Во-первых, мы можем утверждать, что у куриных эмбрионов, уже с 7-дневного возраста, содержание сахара в крови колеблется в узких пределах; и, во-вторых, что уровень гликемии претерпевает в процессе развития закономерное смещение, а именно, он повышается по мере развития эмбрионов.

Оба эти обстоятельства требуют рассмотрения. В самом деле, при помощи каких физиологических приспособлений содержание сахара в крови уже на такой ранней стадии онтогенеза столь постоянно? По этому поводу могут быть высказаны различные предположения. Либо у зародыша на изучаемой стадии развития уже достигли функциональной зрелости те органы, которые осуществляют во взрослом организме регуляцию гликемии, либо эта регуляция совершается каким-то особенным, свойственным лишь эмбриональному периоду, образом. Мы можем себе, наконец, представить и такую возможность, что специальной регуляции гликемии у зародыша не происходит вовсе, но факторы, направляющие развитие организма в целом, обеспечивают такое течение биохимических процессов, благодаря которому содержание сахара в крови колеблется лишь в узких пределах.

В литературе мы можем почерпнуть следующие сведения относительно развития органов, которые известны, как регуляторы гликемии во взрослом организме.

Развитие поджелудочной железы у куриных эмбрионов изучали наиболее подробно Aron и Potvin. Они относят возникновение островков Лангерганса к 9—10-му дню инкубации. Первые следы гликогенообразовательной функции печени обнаружены этими авторами на 10—12-й день.

В мозговом веществе надпочечников по Голубу на 8-й день инкубации происходит превращение симпатических клеток в хромафинные. Тогда же происходит и врастание нервных волокон. Hogben и Grew обнаружили наличие адреналина в организме куриного зародыша на 16-й день инкубации, а Lutz и Case уже на 9-й. Okuda подтверждает выводы последних авторов.

Развитие вегетативной нервной системы морфологически происходит довольно рано, однако относительно функционального ее состояния в эмбриональном периоде мы имеем мало сведений. Согласно Lillie, симпатические ганглии развиты к 8-му дню. Kuntz нашел, что постганглионарные ветви, идущие к кишечнику, развиваются в течение 7 и 8-го дня инкубации.

Таковы те немногочисленные данные, которые мы находим в литературе относительно сроков развития интересующих нас органов. Вряд ли этих данных достаточно для того, чтобы мы могли сделать выбор между высказанными выше предположениями относительно факторов, поддерживающих содержание сахара в крови у куриных эмбрионов на постоянном уровне. Вопрос этот, очевидно, требует дальнейшего изучения.

Второе обстоятельство, которое нуждается в объяснении,— это изменение уровня гликемии в процессе развития эмбрионов.

В самом деле, чем объяснить постепенное нарастание содержания сахара в крови? И почему это нарастание совершается в различные дни с неодинаковой интенсивностью?

Ответить на эти вопросы, не зная, какие физиологические факторы определяют гликемию в эмбриональном периоде, конечно невозможно. Мы можем поэтому ограничиться рассуждениями лишь самого общего характера о вероятной связи наблюдаемых изменений гликемии с функциональным развитием органов внутренней секреции и вегетативной нервной системы. Так, мы могли бы, например, в виде догадки связать наши данные об изменениях гликемии с данными Okuda об увеличении образования адреналина с возрастом. А именно, Okuda нашел, что это увеличение происходит не с одинаковой интенсивностью: в 8—14 дней, а также в 20 — нарастание больше. Как видно, сроки совпадают, примерно, с приведенными нами выше. Существует ли между этими двумя явлениями — нарастанием гликемии, с одной стороны, и нарастанием адреналина в организме — с другой, какая-либо функциональная зависимость или в данном случае наблюдается лишь случайное внешнее сходство факторов,— нам неизвестно. Сознавая малую убедительность подобных ссылок на параллелизм явлений, мы ограничиваемся лишь одним приведенным примером.

Сопоставим теперь наши данные с результатами изучения гликемии у куриных эмбрионов, полученными другими, названными выше авторами.

Мы видели, что нормальный уровень гликемии оценивается различными исследователями по-разному. В этом отношении наши данные подтверждают выводы Владимирова и Шмидта, Zorn a Dalton. И мы нашли, что содержание сахара в крови у зародышей ниже, чем после вылупления. Однако уровень гликемии, приводимый в работе Владимирова и Шмидта, несколько выше найденного нами и приближается к приводимому Владимировым в его более поздней работе.

В основном наш вывод совпадает и с выводом Владимирова и Шмидта о постоянстве уровня гликемии у куриных зародышей. Мы, однако, не можем согласиться с этими авторами в том, что уровень содержания сахара в крови на протяжении инкубации остается неизменным и что лишь перед самым вылуплением происходит некоторое повышение. Действительно, в это время подъем уровня

наиболее значителен, но и в течение всех остальных дней инкубации, во всяком случае начиная с 7-го, происходит отчетливое нарастание гликемии. Надо полагать, что различие в этом отношении выводов наших и названных авторов коренится в количестве исследованных эмбрионов. При том числе зародышей, которое было исследовано Владимировым и Шмидтом и Владимировым (по 30 в каждой работе), очевидно, трудно было уловить небольшое смещение уровня гликемии. Нами же было определено содержание сахара в крови у 228 эмбрионов, что давало, конечно, гораздо больше возможностей в смысле обнаружения существующих закономерностей.

Выводы

1. Куриные эмбрионы уже в 7 дней обнаруживают значительное постоянство гликемии, о чем можно судить по небольшому размаху наблюдаемых у них индивидуальных колебаний. Поскольку эмбрионы только с этого срока и подвергались нами исследованию, не исключена возможность, что такое же постоянство имеет место и на более ранней стадии развития.

2. Уровень гликемии у куриных эмбрионов претерпевает на протяжении инкубации закономерное смещение, а именно, он становится выше по мере развития эмбрионов. Это повышение уровня неравномерно. С 7 до 10 дней нарастание сильнее, затем оно несколько замедляется, с 13 дней ускоряется вновь, а после 18 становится особенно значительным. Это нарастание продолжается и в первые 2 дня после вылупления.

3. Какого-либо смещения уровня гликемии у цыплят на протяжении первых 5 недель постэмбрионального существования заметить не удалось. Некоторое снижение наблюдается у цыплят 5—6 недель. Все же и в этом возрасте уровень гликемии выше, чем у взрослых кур.

ЛИТЕРАТУРА

Владимиров. Арх. биол. наук, *31*, 528, 1931; J. Physiol., *72*, 411, 1931. Bioch. Z., 177, 298, 1926.
Владимиров и Шмидт. Bioch. Z. *177*, 298, 1926.
Голуб. Развитие надпочечных желез. Изд. Акад. Наук БССР, Минск, 1936.
Огородний. Материалы к изучению патологии эмбрионов. Птицепромиздат, Москва, 1939.
Aron et Potvin. C. r. Soc. Biol., *96*, 267, 1927.
Hanan. Proc. Soc. Exp. Biol. a Med., *22*, 501, 1925.
Hogben a. Grew. Brit. J. exp. Biol., *1*, 1, 1923.
Kuntz. Цит. по Lutz a. Case.
Lillie. Цит. по Lutz a. Case.
Lutz a. Case. Amer. J. Physiol., *73*, 670, 1925.
Okuda. Endocrinology, *12*, 342, 1928.
Riddle a. Honeywell. Amer. J. Physiol. *67*, 317, 1924.
Saito u. Kutsyjama. Z. Physiol. Chem., *32*, 231, 1901.
Scheunert u. Pelchzim. Bioch. Z.. *139*, 17, 1923.
Zorn a. Dalton. Proc. Exp. Biol. a. Med., *35*, 451. 1936.

By L. G. LEIBSON and R. S. LEIBSON. NEURAL AND HUMORAL REGULATION OF THE BLOOD SUGAR CONTENT IN ONTOGENESIS

I. THE BLOOD SUGAR CONTENT IN THE CHIK EMBRYO AND YOUNG CHICKS

From the I. P. Pavlov Institute of Evolutionary Physiology and Pathology of the High Nervous Activity (Director — L. A. Orbeli), Pavlovo (Koltushy)

SUMMARY

One of the most remarkable peculiarities of the highly organized animals is their capacity to preserve constant the physical and chemical properties of their internal medium. The blood sugar content is one of such properties. Within the last decades ample information has been obtained regarding the neural and humoral factors controlling glycemia while the intricaty of their interrelations has become still more apparent.

The evolutionary principle successfully applied within recent years for the solution of diverse problems is likely to prove a useful tool in this domain as well.

Our first communication discusses the normal glycemia level in the embryonic and early post-natal period. As object of study chick embryos and very young chicks of the white legghorn bred were used.

Blood samples for analysis were taken from the umbilical artery or one of its branches. Quantitative blood determinations were carried out after Hagedorn — Jensen. Blood for analysis could be procured beginning with the eighth incubation day.

The results obtained in 228 embryos are illustrated by fig. 1 and summarized in Table I. The incubation days are plotted against the abscissa, and the blood sugar content against the ordinate. The points indicate analyses of blood samples of individual chicks, and the squares — the mean arithmetical computed for every age group.

It will appear from the graph that the amplitude of individual variations is insignificant: all the points except several ones are close to the values characterizing the given age. The insignificant amplitude of variations is also evidenced by column 4 of Table I. This column illustrates the mean deviations for every age group.

Thus, in chick embryos glycemia is kept on a definite level already from the seventh day on. Since earlier stages have not been examined the possibility remains open as earlier appearance of this glycemia constancy.

The blood sugar content in embryos liés below that of adult chicks. It will appear from fig. 1 and column 3 of Table I that the glycemia level rises in proportion to the development of the embryos although in an irregular way. It is more pronounced during the 7—10 th day and then the increase is somewhat slowed up; from the 13th day on the rise of the blood sugar content becomes again more perceptible; after 18 days it is particularly significant being continued during the first two days after hatching as well.

As to the physiological processes underlying the constancy of the glycemia level during such an early period of development and the shift of this level at a definite term — this remains as yet an open question.

As to glycemia in young chicks, no appreciable shift of the blood sugar content could be noted during the first 5 weeks following hatching. Yet the glycemia level is here higher than in adult chicks.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СОЮЗА ССР
BULLETIN DE L'ACADEMIE DES SCIENCES DE L'URSS
Отделение биологич. наук № 2 1943 Classe des sciences biologiques

Г. В. ГЕРШУНИ и С. П. НАРИКАШВИЛИ

О ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПРОПРИОЦЕПТОРОВ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ ЛЯГУШКИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НЕКОТОРЫХ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Физиологический институт им. акад. И. П. Павлова (директор — акад. Л. А. Орбели) Академии Наук СССР, Ленинград

Переход возбуждения с одной нервной клетки на другую в ганглиях автономной нервной системы и с двигательного нерва на волокна скелетной мышцы характеризуется появлением целого ряда свойств, отсутствующих в обычных условиях при распространении возбуждения в пределах одного неврона. Эти свойства очень близки к той классической группе явлений, которые характеризуют проведение возбуждения по рефлекторной дуге и выражаются в односторонности проведения, способности суммации подпороговых раздражений, в задержке проведения, в следовых разрядах, легкой утомляемости и большой подверженности влиянию наркотических веществ.

Межклеточное проведение в автономной системе и нервно-мышечном соединении, кроме того, может быть охарактеризовано фармакологически благодаря специфической чувствительности к определенным химическим агентам, из которых некоторые, как ацетилхолин, не являются чужеродными продуктами, а необходимыми спутниками межклеточного проведения в этих физиологических образованиях.

Как широко известно, вся совокупность этих свойств приписывается процессам, происходящим в области межклеточных соединений (синапсов); в частности, многие исследователи видят в выделении активных химических веществ основной механизм этого синаптического проведения возбуждения.

В настоящее время, даже независимо от толкования механизма явлений, можно чисто феноменологически весьма обстоятельно охарактеризовать переход возбуждения в клетках автономной системы и в нервно-мышечном соединении. В эту характеристику синаптического проведения, как необходимое звено, всегда входит специфическая чувствительность к воздействию определенных химических веществ, отсутствующая при непосредственном действии этих веществ на участки нервных проводников, отдаленных от областей межклеточных соединений.

Подобный синаптический тип межклеточного проведения у позвоночных животных чрезвычайно распространен, охватывая межклеточные соединения нервно-мышечного прибора, ганглии автономной системы и распространяясь, очевидно, на соединения в центральной нервной системе.

Однако совершенно неясным остается вопрос о механизмах межклеточного проведения в рецепторах. Действительно, какими свойствами характеризуется переход возбуждения с периферической чувствительной клетки на афферентное волокно? Существует ли и здесь тот же синаптический механизм, который обнаружен в межклеточных соединениях центробежных систем?

Ввиду неясности вопроса мы решили предпринять систематическое изучение условий перехода возбуждения с периферических чувствительных клеток на афферентные волокна, пользуясь для анализа явления воздействием различных химических агентов, для которых характерно специфическое влияние на синаптические соединения (кураре, никотин, ацетилхолин, мускарин). Кроме того, было испытано влияние некоторых протоплазматических ядов, а также ионного состава жидкости, окружающей рецептор.

В качестве объекта исследования были выбраны рецепторы растяжения скелетной мышцы лягушки. Можно считать установленным на основании известных морфологических данных (R. S. Cajal), а также опытов Matthews, что в мышцах конечностей бесхвостых амфибий рецепторами растяжения служат мышечные веретена. Исследование рецепторов в скелетной мышце представляло для нас значительное преимущество, так как давало возможность одновременного сопоставления при воздействии химических агентов реакций и двигательного («синаптического») и рецепторного аппаратов.

Методика

Опыты были произведены на нервно-мышечном препарате (N. n. ischiadicus — tibialis superficialis и m. flexor superficialis digit.) R. temporaria (большей частью) и R. ridibunda. До начала опыта препарат оставался в растворе Рингера в течение 1—1,5 час. Для регистрации потенциалов нерва и для растяжения мышц препарат помещался в металлическую заземленную камеру и там укреплялся неподвижно. Металлическая камера была изнутри заполнена парафином и имела два разделенные между собой углубления — одно для мышцы и другое для нерва. Сухожилие дистального конца мышцы прикреплялось к вертикальному, доходящему почти до дна камеры рычагу (рычаг для растяжения был устроен подобно рычагу в камере Люкаса). Наружное горизонтальное колено этого рычага, на котором подвешивался груз для растяжения, опиралось на специальную подставку. Последняя представляла собой один конец рычага, балансируемый с другого конца соответствующим противовесом. Под тяжестью противовеса находился резиновый баллон, который соединялся резиновой трубкой с другим резиновым баллоном. Зажимание этого баллона вызывало раздувание первого, который поднимал тяжесть противовеса, и подставка быстро отходила от горизонтального колена рычага. С этого момента подвешенный к рычагу груз растягивал мышцу. С прекращением зажимания резиновой груши противовес подымал подставку под горизонтальный рычаг, и растяжение мышц мгновенно прекращалось. Углубление, где помещалась мышца, в начале опыта заполнялось раствором Рингера, последний после нескольких контрольных снимков заменялся тем или другим раствором испытуемого вещества, приготовленного ex tempore (мышца во всех случаях полностью погружалась в раствор, для этого требовалось 25—30 см³). Специально поставленные опыты показали, что лежащий на электродах нерв сохранял в камере свою возбудимость в неизменном состоянии в течение 2—3 час., что вполне удовлетворяло нашим требованиям.

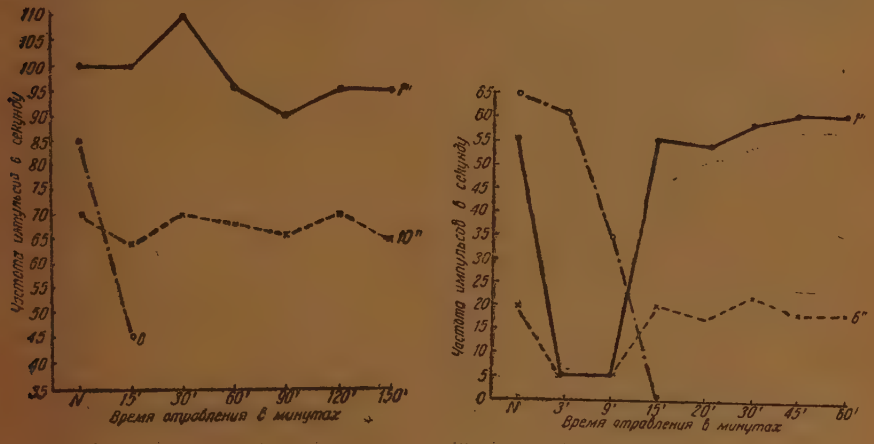
Для отведения потенциалов действия n. tibialis superficialis накладывался на отводящие хлорированные серебряные электроды, которые обматывались смоченным в растворе Рингера тонким слоем ваты. Регистрирующая система состояла из шлейфного осциллографа и четырехкаскадного усилителя, описание которого было сделано ранее (Гершуни, Литвак и Рубель). Для определения порогов непрямого раздражения на n. ischiadicus накладывалась другая пара электродов, соединенная с вторичной катушкой аппарата Дюбуа-Реймона. Пороги раздражения определялись кратковременной фарадизацией после каждого контрольного снимка кривой адаптации проприоцептивных импульсов. Все химические вещества разводились в растворе Рингера.

В большинстве опытов применялся Рингер следующего состава: NaCl — 0,6%; KCl — 0,01%; $CaCl_2$ — 0,01%; $NaHCO_3$ — 0,01%.

Для характеристики функционального состояния проприоцепторов производились снимки во время 10—20-секундного растяжения мышцы. Падение частоты импульсов в течение этого промежутка времени (адаптация) изображалось графически в виде кривых, приводимых в тексте.

Результаты опытов

1. Кураре (Мерк) (8 опытов). При разведении 1 : 2000 двигательный блок на фоне постепенного падения непрямой возбудимости наступает через 30—40 мин. В этих условиях в течение 1,5—2 час. отравления частота проприоцептивных импульсов не претерпевает заметных изменений (см. рис. 1, *А*). При разведении



А *Б*

Рис. 1. По оси абсцисс—время в минутах после начала отравления.

N — препарат в рингере до отравления. По ординате частота проприоцептивных импульсов в 1 сек. и пороги возбудимости в см расстояния катушек индуктория

А — мышца в 0.1% растворе кураре. Растягивающий груз 1 г. ——. —— частота импульсов в течение 1-й секунды растяжения; х——х — то же в течение 10-й секунды растяжения; о——о — пороги возбудимости. Точка, отмеченная 0, соответствует полной невозбудимости при сдвинутых катушках

Б — мышца в 0.02% растворе никотина. Растягивающий груз 1 г. Обозначения те же, что на рис. 1 *А*, за исключением частоты имульсов не на 10, а на 6''

Обратить внимание, что полное восстановление частоты импульсов наступает через 15 мин. и соответствует моменту двигательного блока

1 : 1000 двигательный блок наступает через 15—18 мин. В течение 2,5 часа частота проприоцептивных импульсов остается на том же уровне, что и в начале отравления (см. рис. 1, *А*). На этом же рисунке видно, что после наступления двигательного блока частота импульсов, особенно первой секунды растяжения, становится больше, чем до отравления. Такое взаимоотношение между двигательной и рецепторной функцией мышцы во время кураризации наблюдалось в 6 опытах из 8.

2. Никотин (7 опытов). Разведение 1 : 10 000. Двигательный блок наступает через 45—50 мин.; разведение 1 : 5000 — через 25—35 мин.; разведение 1 : 1000 — блок через 15—20 мин. Во всех случаях отравления до наступления блока развивается контрактура. Проприоцептивные импульсы обнаруживают следующие изменения: при всех концентрациях в первые минуты замены раствора Рингера раствором никотина наблюдается временное уменьшение частоты импульсов (см. рис. 1, *Б* и 3, *А*). Это уменьшение постепенно исчезает и сменяется первоначальной частотой импульсов. Степень умень-

шения частоты импульсов, а также продолжительность этой стадии действия никотина пропорциональны применяемой концентрации. Так, растворы никотина в разведении 1 : 10 000; 1 : 5000; 1 : 1000 вызывают уменьшение частоты на 85—95% (см. рис. 1, *Б* и 3, *А*), тогда как разведение 1 : 100 000 — лишь на 40—50%. Точно так же полное восстановление при последней концентрации наблюдается на 3—5-й минуте действия никотина, при 1 : 10 000—5000 восстановление начинается с 12—15 мин., а при 1 : 1000 восстановление началось в одном опыте лишь через 18—20 мин. и закончилось на 100—110 мин.

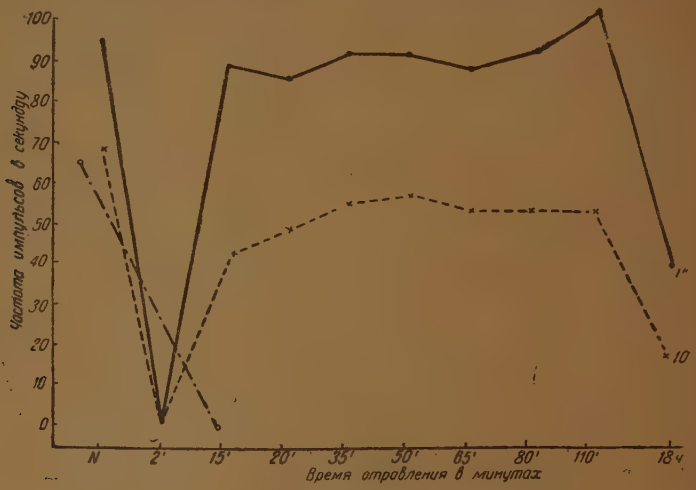


Рис. 2*А*

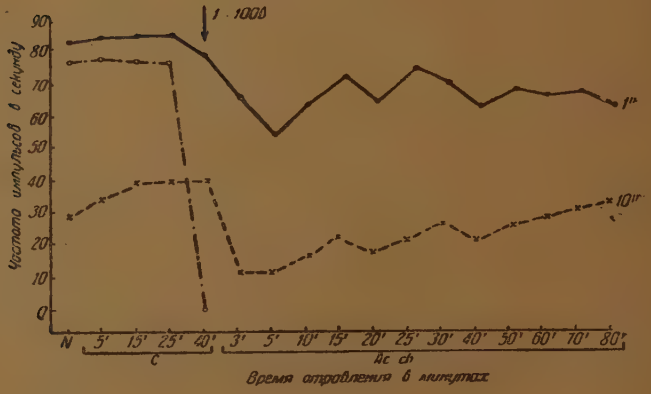


Рис. 2*Б*

Рис. 2. Обозначения те же, что на рис. 1.

А — Мышца в 0.1 % растворе м у с к а р и н а. Растягивающий груз 2 г. Обратить внимание на сохранение проприоцептивных разрядов через 18 час. (! ! !) после отравления

Б — груз 1,0 г Мышца в 0.05 % растворе к у р а р е (*С*). После полной потери непрямой возбудимости помещена в 0.1% раствор а ц е т и л х о л и н а (Ac. ch.). Момент смены жидкости обозначен стрелкой.

Отметить очень небольшое падение частоты импульсов с момента добавления Ac. ch. Кривая, показывающая действие Ac. ch. без предварительной кураризации, не приводится, так как она подобна никотиновой (рис. 1, *Б*) и мускариновой (рис. 2, *А*) кривым

В другом случае полного восстановления при разведении 1 : 1000 не произошло (лишь 55—60% первоначальной частоты).

Применение большего груза в момент полного прекращения импульсации вызывает появление разрядов, частота которых тем больше, чем больше нагрузка. Течение кривой адаптации не испытывает значительных изменений при отравлении. Несмотря на резкое падение частоты, кривые в разные стадии восстановления идут почти параллельно нормальной. При концентрации никотина 1 : 1000 наблюдается возникновение спонтанных разрядов или учащение их, если они были до отравления.

3. Мускарин (Шухардт) (4 опыта). Растворы 1 : 3000, 1 : 2000, 1 : 1000 вызывают наступление двигательного блока через 15—20 мин. после начала отравления (см. рис. 2, *А*); раствор 1 : 200 — блок через 8—10 мин. Картина изменения деятельности проприоцепторов в основном та же, что при никотинном отравлении. Вначале почти полное прекращение проприоцептивных импульсов при развитии контрактуры, затем восстановление частоты разрядов (от 5 до 20 мин.) (см. рис. 2, *А*). Лишь при растворах 1 : 200 восстановление не наблюдалось в течение часа.

После восстановления первоначальной частоты импульсы держатся на этом уровне, почти не изменяясь, долгое время. Так, интересен опыт, в котором мышца пролежала в растворе мускарина (1:1000) 18 час., и за это время частота импульсов упала лишь на 55%.

4. Ацетилхолин-хлорид (Кальбаум) (6 опытов). Растворы 1 : 100 000—1 : 10 000 вызывают тотчас же полное прекращение проприоцептивных импульсов. Однако увеличением груза, растягивающего мышцу, можно вновь вызвать и в этой стадии разряд проприоцепторов; при этом частота импульсов на единицу груза значительно меньше, чем до отравления. Восстановление частоты до первоначальной наблюдается через 10—15 мин. В течение дальнейшего отравления (до 35—40 мин.) проприоцептивные импульсы не претерпевают заметных изменений, однако после этого срока наблюдается постепенное уменьшение амплитуды импульсов без изменения их частоты, что приводит к их полному исчезновению в течение $1^1/_2$—2 час. отравления.

При разведении $1 : 10^6$ нет начального падения частоты импульсов, но изменение амплитуды электрических импульсов, хотя и в более слабой степени, выражено и в этом случае.

Возбудимость мышцы при непрямом раздражении в течение двухчасового отравления обнаруживала лишь незначительные колебания. Явления двигательного блока, которые можно получить при одновременной эзеринизации, в наших условиях отсутствовали.

После предварительной кураризации, которая, как известно, препятствует развитию ацетилхолиновой контрактуры, стадия уменьшения частоты проприоцептивных импульсов или полностью отсутствует или же значительно ослаблена (см. рис. 2, *Б*). Это различие зависит от глубины кураризации. Если замену раствора Рингера — кураре раствором ацетилхолина производить тотчас же после наступления двигательного блока, то при больших концентрациях 1 : 1000; 1 : 10 000 все же наступает небольшое (25—30%) падение частоты проприоцептивных импульсов; явление, однако, отсутствует, если ацетилхолин добавляется через 30—40 мин. после развития курарного эффекта.

5. Кокаин солянокислый (5 опытов). Раствор в разведении 1 : 1000 в течение 8—10 мин. прекращает проприоцептивные им-

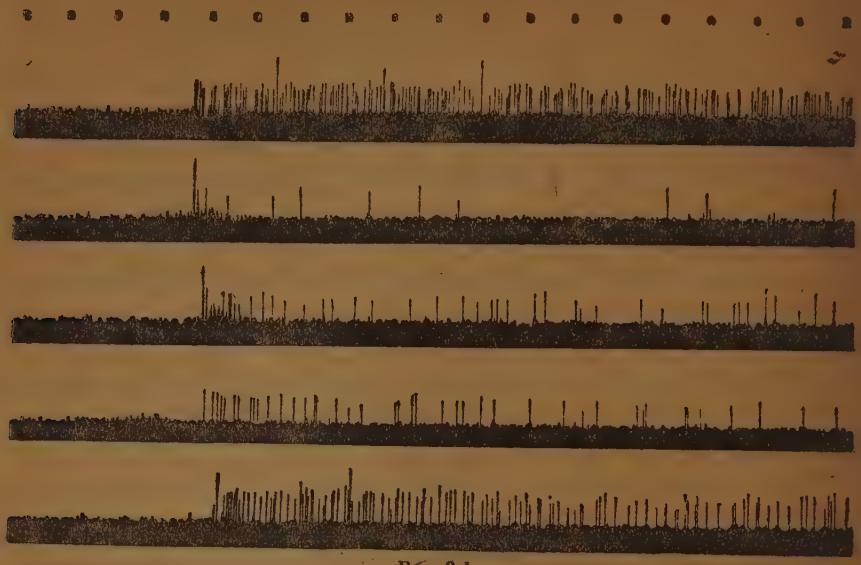


Рис. 3А

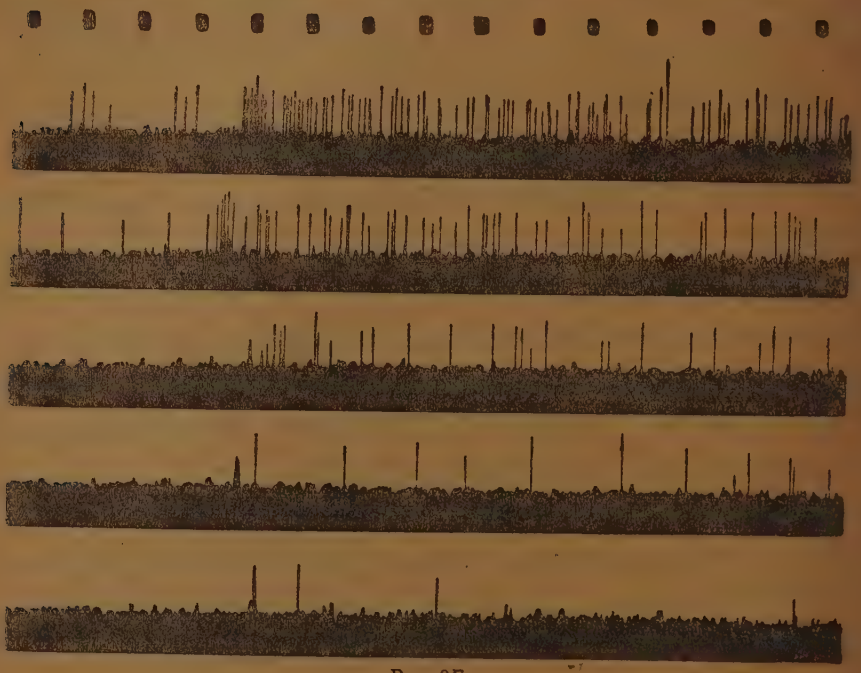


Рис. 3Б

Рис. 3. Проприопептивные импульсы при растяжении мышцы (зарегистрировано на шлейфном осциллографе). Наверху время $^1/_5$ сек.

А — действие никотина. Первая осциллограмма сверху: импульсы при растяжении мышцы (груз 1 г) до отравления; вторая — через 3 мин. после погружения мышцы в 0.1% раствор никотина; третья — через 20 мин.; четвертая через 35 мин.; пятая — через 65 мин. Обратить внимание на восстановление частоты импульсов.

Б — действие кокаина. Первая осциллограмма сверху; импульсы при растяжении мышцы (0.5 г) до отравления. Отметить наличие спонтанных импульсов; вторая осциллограмма — через 5 мин. по погружении мышцы в 0.02% раствор кокаина; третья — через 10 мин.; четвертая — через 20 мин.; пятая — через 30 мин.

пульсы, вызванные нагрузкой мышцы. Приблизительно в это же время развивается двигательный блок. Разведение 1 : 2000, вызывая постепенно уменьшение частоты проприоцептивных импульсов, через 10—20 мин. ведет к их полному исчезновению. Одновременно теряется непрямая возбудимость (см. рис. 3, *Б*).

При разведении 1 : 5000 деятельность проприоцепторов прекращается почти полностью через 35—40 мин. после начала отравления (см. рис. 3, *Б*); двигательные пороги в течение этого времени не испытывают заметных изменений и лишь через час после начала отравле-

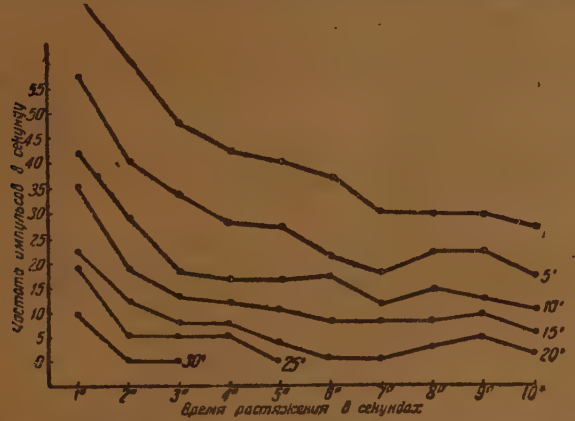


Рис. 4. Изменение кривой адаптации проприоцепторов при отравлении 0.02% раствором кокаина. На ось абсцисс время в секундах, в течение которого мышца растягивается грузом в 1,0 г. На ординате частота проприоцептивных импульсов в 1 сек. Первая кривая сверху представляет течение адаптации до отравления. Последующие кривые представляют течение адаптации через 5, 10, 15, 20, 25 и 30 мин. после начала отравления. Обратить внимание, что через 23 мин. отравления ответ прекращается на 5-й секунде растяжения, через 30 мин.— на 2-й секунде растяжения

ния начинают постепенно возрастать. Невозбудимость наступает через 2—$2^1/_2$ часа.

Частота проприоцептивных импульсов постепенно падает с развитием отравления, течение кривой адаптации мало отличается от нормальной, за исключением абсолютной частоты разрядов (см. рис. 4). Но на 20—25-й минуте отравления импульсы возникают лишь в течение первых (см. рис. 4) секунд растяжения, а при более глубоком отравлении — долей секунды. Увеличение груза в этот период не вызывает увеличения длительности разряда, а лишь возрастание количества импульсов за тот же промежуток времени. Так, увеличение груза от 0,5 до 5 г может дать возрастание количества импульсов от 5 до 15—16 в течение полсекунды.

Таким образом, проприоцептивные аппараты дают в этих условиях лишь начальный ответ. Точно так же раздражение двигательных волокон еще задолго до наступления блока не дает тетанусов при фарадизации, а лишь начальное вздрагивание.

Спонтанные импульсы, в случае если они обнаруживались до отравления, прекращались несколько ранее импульсов при нагрузке мышцы.

Восстановление деятельности проприоцепторов при прекращении не слишком длительного отравления (до 1 часа) наблюдалось всегда.

7. Атропин (7 опытов). Раствор атропина 1:1000 оказывает действие, близкое действию раствора кокаина 1:5000. Полное прекращение деятельности проприоцепторов, после постепенного падения частоты разрядов, наступает через 35—50 мин. после начала отравления (см. рис. 5, *А*). Точно так же как и при кокаине, наблю-

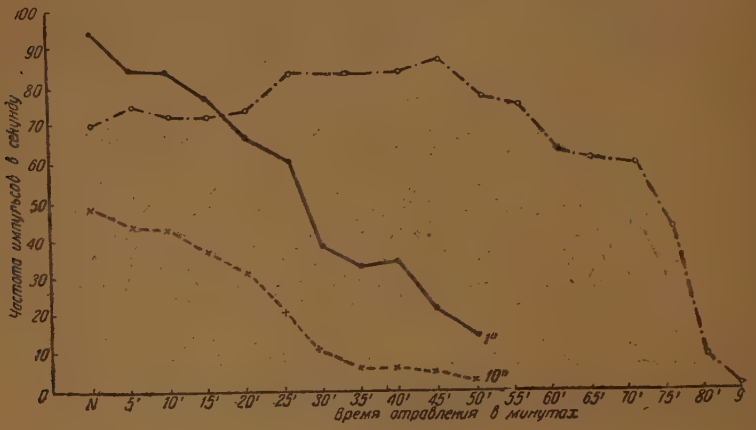


Рис. 5*А*

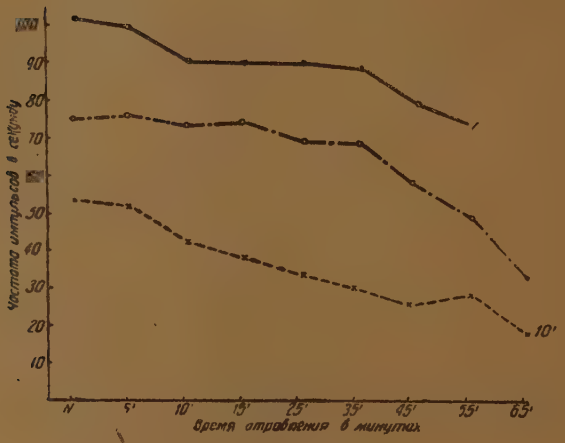


Рис. 5*Б*

Рис. 5. Обозначения те же, что на рис. 1 и 2.

А — мышца в 0.1% растворе атропина. Груз, растягивающий мышцу, 2,0 г. Отметить почти полное прекращение проприоцептивных разрядов на 50-й и полную потерю возбудимости при раздражении двигательных волокон на 90-й минуте отравления

Б — мышца в 0.1% растворе гистамина. Отметить параллельное падение частот проприоцептивных импульсов и возбудимости к непрямому раздражению

дается стадия кратковременного разряда, длящегося при 10-секундном растяжении мышцы нередко менее одной секунды. Точно так же увеличение растягивающего мышцу груза вызывает увеличение количества импульсов, а не длительности разряда.

Нервно-мышечная возбудимость начинает обнаруживать определенные изменения лишь через час после начала отравления; двигательный блок наступает через $1^1/_2$—2 часа (см. рис. 5*А*).

Ход кривой адаптации обнаруживает сравнительно быстрое падение частоты импульсов от 1 до 2 сек. растяжения; кроме того, значительно нарушается регулярность изменения частоты импульсов при адаптации при частотах 40—45 в 1 мин., что на неотравленной мышце не наблюдается.

8. Гистамин-дигидрохлорид (Гофман-Ларош) (7 опытов). Раствор 1:1 000 вызывает постепенное и равномерное уменьшение частоты импульсов; в течение 1—1,5 час. частота падает на 70—80%. Совершенно параллельно (см. рис. 5, *Б*) понижается нервно-мышечная возбудимость.

Растворы 1:500, 1:300 вызывают совершенно параллельное уменьшение частоты проприоцептивных импульсов и падение нервно-мышечной возбудимости. Полный двигательный блок и прекращение импульсов на растяжение наступают почти одновременно, приблизительно через час после начала отравления. В этой стадии увеличение груза во много раз не вызывает возникновения импульсов. Кривая адаптации в течение всего времени отравления протекает параллельно кривой адаптации нормальной мышцы.

Растворы 1:100—200 вызывают одновременный паралич двигательной и чувствительной функции мышцы через 15—20 мин.

Какой-либо стадии возбуждения чувствительных аппаратов при отравлении гистамином не наблюдается.

9. Дестиллированная вода (2 опыта). Помещение мышцы в дестиллированную воду вызывает в течение 35—40 мин. одновременное исчезновение непрямой возбудимости и реакции проприоцепторов на растяжение. Интересно, что в определенной стадии пребывания в дестиллированной воде наблюдаются быстро затухающие группы проприоцептивных импульсов лишь в момент приложения и прекращения нагрузки мышцы.

Из представленной выше серии опытов вытекает, что все изученные вещества могут быть разбиты, с точки зрения их сравнительного действия на двигательные и чувствительные нервные приборы скелетной мышцы, на три группы.

Первая группа — вещества, вызывающие двигательный блок вследствие воздействия на мионевральные соединения (кураре, никотин и мускарин). Эти вещества не вызывают какого-либо изменения деятельности проприоцепторов после наступления двигательного блока. В первой стадии действия никотина и мускарина, предшествующей блоку, наблюдается, однако, временное прекращение деятельности проприоцепторов. Подобная же картина наблюдается при действии ацетилхолина. При действии никотина, мускарина и ацетилхолина наступает, как широко известно, контрактура, в чем мы могли убедиться сами. В этой контрактуре, очевидно, следует искать причину падения частоты проприоцептивных импульсов; как показал Matthews, сокращение мышцы вызывает паузу в деятельности проприоцепторов; явление это может быть объяснено разгрузкой мышечных веретен вследствие сокращения окружающих мышечных волокон. Подобное же явление должно происходить и при контрактуре. В том, что в контрактуре, а не в непосредственном воздействии веществ на мышечные веретена следует видеть причину прекращения импульсов, убеждают следующие факты. Предварительная кураризация отравляемой ацетилхолином мышцы, препятствующая развитию контрактуры, препятствует также падению

частоты проприоцептивных импульсов; точно так же исчезновение контрактуры после наступления двигательного блока при никотине и мускарине сопровождается полным восстановлением деятельности проприоцепторов. Кроме того, увеличением нагрузки, увеличивающей растяжение мышечных волокон, всегда можно вызвать разряды проприоцептивных аппаратов.

Прототипом влияния этой группы веществ может служить кураре, по существу не изменяющее (кроме небольшого учащения в момент наступления блока) деятельности проприоцепторов.

Ацетилхолин, если исключить вызываемую им контрактуру, не оказывает в течение первого часа влияния на проприоцептивные аппараты и с этой точки зрения может быть отнесен к группе никотина и мускарина. Необъясненным пока является уменьшение амплитуды электрических импульсов при постоянной их частоте в дальнейшие стадии действия ацетилхолина. Можно предполагать, что в этом случае происходит непосредственное воздействие на нервный ствол.

Ко второй группе веществ следует отнести кокаин и атропин, вызывающие как анестетики паралич вначале чувствительных, а затем и двигательных окончаний.

К третьей группе относятся гистамин и дестиллированная вода, воздействующие, очевидно, на мышечную ткань и вызывающие параллельную потерю чувствительных и двигательных функций скелетной мышцы.

Значение солевого состава

Как уже указывалось выше, раствор, применявшийся для опытов, состоял из: 0,6% NaCl и равных концентраций (0,01%) CaCl KCl и Na HCO_3. Этот состав был применен в результате целого ряда контрольных опытов, которые показали, что для лягушек (R. temporaria) второй половины зимнего периода (1938/39 г.) даже небольшие изменения концентрации Na и особенно Ca чрезвычайно резко сказываются на деятельности проприоцепторов. Так, применение раствора Рингера с повышенным содержанием Ca до 0,015% вело к прекращению деятельности проприоцепторов, особенно если мышца находилась в растворе с самого начала препаровки. Понижение содержания Ca вело к появлению многочисленных спонтанных разрядов. В применяемом нами растворе Рингера проприоцепторы сохраняли свою деятельность без заметных изменений в течение 2—3 час. Редкие спонтанные импульсы (от 3 до 6 в 1 сек.) не мешали наблюдению.

В этот период времени мы не могли пользоваться предложенным Matthews составом Рингера (0,65% NaCl; 0,02% KCl; 0,015% $NaHCO_3$ и 0,025% $CaCl_2$), так как в большинстве приготовленных на этом растворе препаратов проприоцептивные разряды прекращались в течение 30—60 мин. На другой партии лягушек в конце зимы 1939/40 г. мы также изучали влияние солевого состава на деятельность проприоцепторов. В этих условиях, однако, мы не обнаружили той чувствительности к изменению Ca, которая нами наблюдалась ранее. Лишь при значительно больших изменениях концентрации, начиная от 0,03% до 0,1—0,2%, уже ясно сказывалось действие Ca на рецепторы, заключающееся в умножении частоты разрядов на единицу нагрузки и более быстром течении адаптации. Уменьшение содержания Ca до 0,005% вызывало некоторое замедление течения адаптации и собирание спонтанных импульсов в группы, «пачки». В изотоническом (0,6%) растворе NaCl проприоцепторы обна-

руживают некоторое замедление адаптации и увеличение спонтанной деятельности, однако меньше, чем при уменьшении содержания Ca в растворе Рингера. Эти данные вполне согласуются с опытами

Рис. 6. Проприоцептивные импульсы при действии лимоннокислого натрия 1s — секунда

1 — рингер; *2* — через 15 мин. после погружения в раствор цитрата (1% Na. citr. + 0,45% NaCl), *3* — через 33 мин.; *4* — через 7 мин. после отмывания цитрата (рингер); *5* — то же через 18 мин.: *6* — через 20 мин. после добавления рингера с повышенным содержанием кальция. Обратить внимание на спонтанные импульсы и группировку («пачки») (*2, 3, 4*), замедление адаптации (*5*), восстановление (*6*) Пороги (двигательные) 67 см (*1, 2*), 60 см (*3*) полная невозбудимость (*4, 5, 6*)

Matthews, которые показали влияние Ca на течение адаптации в проприоцептивных аппаратах. Однако факт различий чувствительности к Ca проприоцепторов разных партий лягушек не подвергается этим сомнению и должен приниматься во внимание.

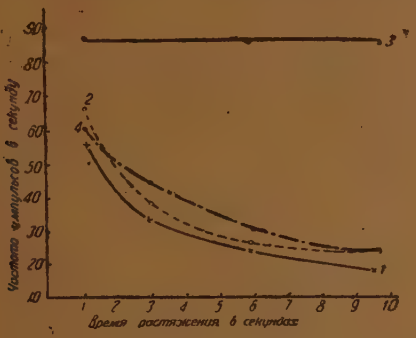


Рис. 7. Кривые адаптации проприоцепторов при действии лимоннокислого натрия.

По абсциссе — время растяжения в секундах; по ординате — частота импульсов в 1 сек. Rana esculenta; груз 15 г х —,— х — рингер; 0-----0 — Na. citr. 2% NaCl 0,3% (5-минутное воздействие); —— рингер через 23 мин. после отмывания цитрата; спонтанные импульсы отсутствуют: х — —х — рингер. с повышенным содержанием кальция через 47 мин. после отмывания цитрата

Наиболее подробно (12 опытов) нами были изучены те изменения деятельности проприоцепторов, которые происходят при искусственной декальцинации мышцы, при воздействии лимоннокислого натрия.

При помещении мышцы в изотонический (4%) Раствор Na citric. через несколько минут (1—2) начинается спонтанная деятельность

проприоцепторов, все учащающаяся и превращающаяся в сплошной град импульсов (частота до 100—150 в 1 сек.), на фоне которого невозможно определить влияние нагрузки мышцы. Кроме того, вскоре начинаются подергивания мышцы. Однако при меньших концентрациях Na citr. (0,6—2%) удается обнаружить стадию резчайшего замедления или даже прекращения адаптации при относительно редкой спонтанной деятельности (см. рис. 7). Явления происходят следующим образом (см. рис. 6): смена Рингера или изотонического раствора 0,6% NaCl, в котором находится мышца, на раствор NaCl с соответственным содержанием Na citr. вызывает постепенное возрастание спонтанных импульсов в течение 10—20 мин., в зависимости от концентрации. В этот промежуток времени можно наблюдать замедление адаптации. Дальнейшее пребывание препарата в растворе вызывает значительное возрастание спонтанных импульсов, группирующихся в «пачки» (см. рис. 6,*3*). В этой стадии нагрузка мышцы вызывает лишь начальное учащение импульсов, замедление адаптации не может быть обнаружено. Наиболее интересная картина наблюдается после смены лимоннокислого натрия раствором Рингера или изотоническим раствором NaCl (см. рис. 6, *4*, *5*). Спонтанная деятельность прекращается не более чем через 10—15 мин. после смены раствора, течение же адаптации в этот промежуток времени оказывается резчайшим образом замедленным в течение длительного времени (см. рис. 7, *3*). Начальная частота импульсов в этих условиях оказывается также повышенной. После добавления раствора с повышенным содержанием Са кривая адаптации принимает нормальное течение (рис. 7, *4*). Параллельные определения двигательных порогов показали наступление блока, длящееся долгое время (до 40—60 мин.) после отмывания цитрата. Двигательный блок наблюдался в периоды максимальной частоты разрядов проприоцепторов и наиболее медленного течения адаптации. Лишь в одном опыте из 7, в которых определялась непрямая возбудимость мышцы, не мог быть обнаружен двигательный блок; однако в этом единственном случае время действия 1% раствора цитрата было очень мало (3 мин.). Изменения деятельности проприоцепторов в этом опыте были обычного типа.

Обсуждение результатов

Приведенные выше данные показывают, что по своей реакции на воздействие различных химических агентов рецепторные нервные приборы в скелетной мышце значительно отличаются от двигательных.

Действительно, мы не в состоянии были обнаружить каких-либо специфических химических веществ, которые оказывали бы избирательное действие на рецепторные приборы[1], в то время как соответственные концентрации веществ типа кураре, никотина, мускарина оказывают выраженное избирательное влияние на двигательные приборы. Первая стадия действия никотина, мускарина и ацетилхолина, вызывающая временное уменьшение частоты проприоцептивных импульсов, как уже указывалось выше, должна рассматриваться как результат наступающей контрактуры, чисто механически препятствующей раздражению рецепторов, а не непосредственного влияния на них этих веществ. Все вещества, вызывающие истинный паралич

[1] По исследованиям Bronk, проприоцептивные аппараты не обнаруживают какой-либо избирательной чувствительности к стрихнину.

деятельности проприоцептивных аппаратов (кокаин, атропин, гистамин), ведут также к параличу двигательной иннервации. Различия во времени наступления паралича рецепторного и двигательного приборов при действии кокаина и атропина хорошо объясняются различием в диаметре чувствительных и двигательных волокон, иннервирующих скелетную мышцу (см. Erlanger); ибо, как показали исследования лаборатории Gasser, диаметр определяет время наступления кокаинового блока для различных групп волокон в нервном стволе.

Весьма отчетливо различие в реакции двигательных и чувствительных приборов обнаруживается при декальцинации, вызываемой цитратом. В этих условиях со стороны проприоцептивных аппаратов наблюдается возрастание частоты импульсов и замедление процесса адаптации, а в двигательном приборе наступает блок. Картина в известной мере может быть сопоставлена с явлениями, сопровождающими декальцинацию в ганглиях симпатической системы (Harvey и McIntosh). В этом случае резко возрастает частота разрядов в ганглиозных клетках при непосредственном раздражении, и проведение возбуждения при раздражении преганглионарных волокон отсутствует. Проприоцептивные аппараты ведут себя подобно непосредственно раздражаемому неврону, двигательные обнаруживают явления, свойственные соединениям двух невронов (синапсов).

Эта аналогия не случайна. По существу, весь приведенный выше материал показывает, что реакция рецепторных аппаратов скелетной мышцы на воздействие химических агентов мало отличается от реакции нервного волокна, в то время как реакция двигательного прибора обнаруживает специфические для синаптического проведения черты. Можно было указать, что эти факты вполне соответствуют ожиданиям, так как эпидермальные чувствительные окончания мало связаны с мышечным волокном. Такое заключение было бы, однако, неправильным. Афферентные нервные волокна чрезвычайно интимно связаны с интрафузальными мышечными волокнами, последние претерпевают совершенно определенные дегенеративные изменения после чувствительной денервации мышцы (см. Tower). Эти изменения вполне аналогичны тем, какие наблюдаются при денервации вкусовых сосочков и кортиева органа. Мы вправе рассматривать интрафузальное волокно как рецепторную клетку, возбуждение которой предшествует возбуждению центростремительного волокна. Поэтому мы должны заключить, что дело не в отсутствии связи между чувствительным волокном и периферической рецепторной клеткой, а в том, что связь эта не обладает теми признаками, которые объединяются общим понятием синаптического проведения и характерны для соединения двигательного волокна и мышечной клетки или двух нервных клеток. Физиологические механизмы перехода возбуждения с рецепторной клетки на афферентное волокно отличны от механизмов межклеточного проведения в эффекторных системах. Это тем более вероятно, что в настоящее время вообще еще не ясны признаки «возбуждения» периферических рецепторных клеток.

Было бы преждевременным переносить явления, наблюдаемые в проприоцепторах, на все рецепторные аппараты. Дальнейшие исследования должны показать, насколько приложимы обнаруженные явления для других рецепторных приборов. Однако еще не опубликованные данные Марусевой и Рабинович, полученные при перфузии внутреннего уха, позволяют допускать, что в кортиевом органе синаптические яды типа кураре, точно так же как и в проприоцептивных аппаратах, не вызывают нарушения связи между афферент-

ным нервным волокном и рецепторной клеткой. Таким образом, если допускать аналогии, то проведение возбуждения в рецепторном приборе скорее может быть сопоставлено с условиями проведения в диффузной нервной системе, чем с межклеточным «синаптическим» проведением.

Выводы

1. Сопоставление действия различных химических агентов на проприоцептивные аппараты и двигательный нервный прибор скелетной мышцы лягушки показывает, что:

1) двигательный блок, наступающий при действии кураре, никотина и мускариина, не сопровождается заметным изменением деятельности проприоцепторов;

2) наблюдаемое в первые минуты действия никотина, мускарина и ацетилхолина временное уменьшение частоты проприоцептивных импульсов является результатом развивающейся контрактуры;

3) превращение деятельности проприоцепторов при действии кокаина, атропина, а также гистамина всегда сопровождается (через тот или другой промежуток времени) наступлением двигательного блока;

4) декальцинация при действии лимоннокислого натрия ведет к повышению частоты проприоцептивных разрядов и замедлению адаптации, одновременно развивается двигательный блок.

2. Все приведенные данные показывают, что, в противоположность двигательным, чувствительные аппараты не обнаруживают какой-либо специфической чувствительности к определенным химическим агентам, которые вызывают нарушение межклеточного проведения. В этом отношении рецепторные приборы могут быть уподоблены нервным волокнам или диффузной нервной системе некоторых беспозвоночных (кишечнополостных).

ЛИТЕРАТУРА

1. Гершуни Г., Литвак И. и Рубель Г. Физиол. журн. СССР, *26*, 200, 1939.
2. Erlanger I. Amer. J. Physiol., *82*, 644, 1927.
3. Gasser H. (Bioelectrical signs of nervous activity, Erlanger a. Gasser, 1937.
4. Harvey A. M. McIntosh. T. J. Physiol., 57, 408, 1940.
5. Matthews. J. Physiol., *71*, *64* и *72*, 153, 1931.
6. Tower S. Brain, *55*, 77, 1932.

By G. V. GERSHUNI and S. P. NARIKASHVILI. ON THE ACTIVITY OF THE PROPRIOCEPTORS OF THE SKELETAL MUSCLE OF THE FROG UNDER THE ACTION OF CERTAIN CHEMICAL SUBSTANCES

I. P. Pavlov Physiological Institute (Director — L. A. Orbeli) of Academy of Sciences of the USSR, Leningrad

The subject discussed by the authors is that of proprioceptive impulses arising on the extension of m. flexor. superficial. digitorum of the frog while under the action of various chemical agents which disturb conductivity in the ganglia of the autonomic nervous system and in the neuro-muscular junction (curare, nicotine, muscarine, acetylcholine). The influence of protoplasmic poisons of the cocaine type has also been investigated.

The recording of proprioceptive impulses has been made with the aid of a resistance capacity coupled amplifier and a loop-oscillograph. The thresholds of the motor response of the neuro-muscular apparatus were determined with the help of a Dubois-Raymond inductorium.

By comparing the action of different chemical agents on the proprioceptive and motor endings in the skeletal muscle it has been found that:

1. The motor block which sets in under the action of curare, nicotine and muscarine is not attended by any appreciable change in the activity of proprioceptors.

2. The temporary decrease in the frequency of proprioceptive impulses observed during the first few minutes of the action of nicotine, muscarine and acetylcholine is due to the developing contracture.

3. When the activity of proprioceptors has ceased under the influence of cocaine, atropine, or histamine, we may after some length of time always observe the appearance of a motor block.

4. Decalcination under the influence of sodium citrate leads to an increase in the frequency of proprioceptive discharges and to the slowing down of adaptation processes. It is accompanied by the development of a motor block.

The evidence furnished by these experiments is that, contrary to the motor apparatus, the receptors of the muscles do not show any specific sensitivity to those chemical agents which disturb the intercellular transmission. In this respect the receptor apparatus does not differ from a nervous fibre.

The conduction of excitation from a peripheral receptor cell to an afferent fibre appears to have no signs typical of synaptic transmission. Therefore in the case of the receptor apparatus there is little ground to assume the presence of a similar humoral mechanism of transmission of the nervous impulse, which is known to exist in the ganglia of the autonomous nervous system and in the neuro-muscular junction.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СОЮЗА ССР
BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS
Отделение биологич. наук № 2, 1943 Classe des sciences biologiques

Н. М. ШАМАРИНА

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОМАТИЧЕСКОЙ МУСКУЛАТУРЫ КОСТИСТЫХ РЫБ

Лаборатория нервно-мышечной физиологии (зав.— проф. А. Г. Гинецинский) Физиологического института им. акад. И. П. Павлова (директор — акад. Л. А. Орбели) Академии Наук СССР. Ленинград

Поступила 7.VI. 1941

В настоящее время в ряде исследований получен убедительный фактический материал, свидетельствующий о том, что у теплокровных животных в передаче импульса с нерва на мышцу существенная роль принадлежит ацетилхолину (Brown, Dale a. Feldberg). Аналогичные данные получены и в отношении амфибий и рептилий. В этом последнем случае были описаны особенности реакции на эзерин, которые позволили высказать ряд соображений о структурных и функциональных особенностях различного типа мышечных волокон (Гинецинский и Михельсон, Гинецинский и Итина, Итина).

Попытки нашей лаборатории притти к некоторым заключениям о путях эволюционного развития локомоторной мускулатуры, исходя из оценки особенностей холинэргической характеристики мышечной ткани (Ginezinsky), побудили нас исследовать холинэргические механизмы у представителей различных классов животных. В отношении скелетных мышц рыб до настоящего времени соответствующих данных в литературе нет. В исследованиях Riesser, Rückert, Ledebur u. Wunder показано, что в мышцах костистых рыб, при погружении в раствор ацетилхолина, реакции на ацетилхолин не возникает и они должны быть, следовательно, по классификации Sommerkamp, отнесены к группе нетонических мышц. Задачей данного исследования являлось выяснение реакции нормальной и эзеринизированной соматической мускулатуры рыб на внутриартериальное введение ацетилхолина (по Dale) и на непрямое раздражение током различной частоты и силы. Кроме того, исследовалось действие ацетилхолина, вводимого внутриартериально, на фоне сокращения, вызванного непрямым раздражением.

Методика

Работа проводилась на костистых рыбах (окунь — Perca fluviatilis, судак — Lucioperca-lucioperca, сом — Silurus glanis и угорь — Anguilla-anguilla). Объектом исследования служили мышцы грудного плавника: m. levator, представляющий спинную часть, и m. depressor — грудную часть плавника. Плавник изолировался целиком, с отводящими и приводящими мышцами и с соответствующими нервами (plexus brachialis). Кроме того, отпрепаровывалась art. subclavia, которая отходит от спинной аорты и идет непосредственно к мышцам грудного плавника. В art. subclavia вставлялась металлическая канюля от шприца (так как просвет сосуда настолько мал, что трудно даже вставить ушную стеклянную канюлю), через которую в тече-

ние всего опыта производилась перфузия раствором Рингера. Обычно опыты над судаком, окунем и угрем производились при применении раствора Рингера изотонического 0,7% NaCl, опыты над сомом – с раствором изотоническим 0,9% NaCl. Иногда к перфузату прибавлялись отмытые эритроциты. Надо отметить, что даже в условиях хорошей перфузии, когда пороги возбудимости нервно-мышечного препарата плавника сохранялись в течение нескольких часов неизменными, высота сокращения в большинстве опытов постепенно падает. Вряд ли это можно объяснить утомлением в обычном понимании этого слова. Раздражение давалось в течение 3—5 сек. с перерывами в 10—20 мин. Отравление эзерином производилось путем прибавления последнего к перфузируемому раствору из расчета $1:2\cdot10^5$ или $1:10^5$. Сокращение мышц плавника регистрировалось по движению самого плавника, который соединялся с легким изотоническим рычагом. Нерв раздражался индукционным током. Изменение частоты раздражения производилось посредством прерывателя Бернштейна, включенного в первичную цепь индукционной катушки.

Опыты с непрямым раздражением нормальной и отравленной эзерином мышцы током различной частоты и силы

Непрямое раздражение мышц плавника индукционным током в ритме от 5 в 1 сек. до 250 в 1 сек. и длительностью раздражения 5 сек. показало, что высота сокращения непрерывно повышается с нарастанием частоты раздражения. Пессимальная реакция в этих условиях эксперимента почти полностью отсутствует. На раздражение в ритме 10—20 в 1 сек. мышцы плавника реагируют уже полным тетанусом. Максимальная высота сокращения достигается при ритмах 80—100 в 1 сек., а иногда лишь при раздражении в ритме 200 в 1 сек. Только при ритме раздражения 250 в 1 сек. возникает незначительное снижение высоты сокращения. Некоторое исключение, по-видимому, представляют мышцы сома, у которого намечается пессимальная реакция на ритмы раздражения 100—150 в 1 сек.

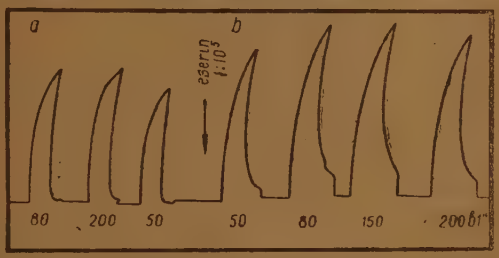


Рис. 1. Тетаническое сокращение мышц плавника при непрямом раздражении в различных ритмах (цифры внизу кривой—ритм). Длительность тетанизации 5 сек.

a — нормальная мышца; *b* — мышца, отравленная эзерином

В наших условиях опыта нам не удалось также получить пессимума силы тока. Усиление тока на 20—30 см выше порога не вызывает пессимальной реакции мышц плавника даже при частотах раздражения 250 в 1 сек.

Перфузия эзерина в разведении $1:10^5$ и $1:2\cdot10^5$ уже в течение первых 10—15 мин. вызывает изменения в характере сокращения мышц плавника. В первую стадию отравления наблюдается повышение сокращения, вызванного тетанизирующим раздражением (рис. 1). Эта стадия повышения высоты сокращения очень кратковременна, и потому далеко не во всех опытах нам удалось ее проследить. Весьма существенно, что отравление эзерином мышц рыб не обусловливает появления пессимальной реакции при ритмическом раздражении, как это характерно для мышц млекопитающих и для нетонических мышц амфибий. Зато на раздражение любыми частотами тока мышцы после отравления эзерином начинают реагировать остаточной контрактурой (рис. 2). Такая контрактура характерна для тонических мышц амфибий и рептилий и может зависеть от накопления ацетилхолина во время раздражения при условии инактивации холинэстеразы

эзерином (Гинецинский и Михельсон). Особенно резко выражена контрактура у угря (рис. 3), в меньшей степени она заметна у окуня судака и отсутствует у сома.

Мышцы сома обладают, повидимому, некоторыми особенностями по сравнению с другими видами рыб. Как мы указывали выше, мышцы плавника сома в нормальных условиях при раздражении в ритме 100—150 в 1. сек обнаруживают пессимальную реакцию, чего мы не наблюдали у других представителей костистых рыб.

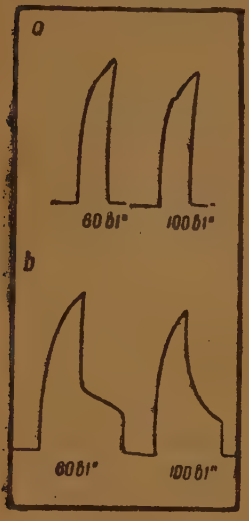


Рис. 2. Остаточная контрактура отравленной эзерином мышцы окуня при непрямом раздражении:

a — нормальная мышца; *b* — мышца, отравленная эзерином

Рис. 3. Остаточная контрактура в мышце угря. Стрелкой отмечен момент прекращения раздражения:

a — нормальная мышца, *b* — мышца, отравленная эзерином

Рис. 4. Сокращение мышц плавника, вызванное внутриартериальным введением 4 γ ацетилхолина (*a*) и максимальный пятисекундный тетанус (*в*) в ритме 180 в 1 сек.

Отравление же эзерином мышц сома еще более способствует развитию пессимальной реакции, подобно той, которая развивается на нетонических мышцах лягушки. К сожалению, в отношении сомов нам приходится ограничиться лишь предварительными данными, так как в нашем распоряжении было всего несколько рыб этого вида и нам не удалось провести нужного количества наблюдений.

Данные, полученные на всех исследованных видах костистых рыб (за исключением сома): очень слабо выраженная пессимальная реакция на раздражение током частого ритма и большой силы, отсутствие пессимума после отравления эзерином и появление остаточной контрактуры после раздражения отравленной эзерином мышцы, указывают на то, что по своим функциональным свойствам мышцы плавника исследованных рыб (за исключением сома) принадлежат к типу тонических поперечнополосатых мышц.

Действие ацетилхолина на нормальные и эзеринизированные мышцы плавника

Согласно классификации Sommerkamp, Wachholder, все тонические поперечнополосатые мышцы обладают высокой чувствительностью

к ацетилхолину, приложенному извне. Соматическая же мускулатура костистых рыб, по данным Riesser, Rückert, Ledebur u. Wunder, не реагирует на ацетилхолин, приложенный извне, даже в концентрации 1:1000, и потому, по мнению этих авторов, должна быть отнесена к нетоническому типу. Этот вывод противоречит результатам наших опытов. Мы нашли, что по другим показателям, а именно по реакции на эзерин (отсутствие пессимальной реакции на раздражение и появление остаточной контрактуры), и по резко выраженному суммационному эффекту, эти мышцы могут быть отнесены к типу тонических мышц. Поскольку все эти признаки в случае мышц амфибий и рептилий всегда коррелируют со способностью реагировать контрактурой на ацетилхолин, такое расхождение признаков в случае рыбы казалось нам мало вероятным.

Убедившись, что и в наших условиях опыта мышцы плавника также не реагируют на погружение в ацетилхолин, мы решили исследовать эффект внутриартериального введения ацетилхолина. Для этой цели на очень короткий срок прерывалась перфузия и непосредственно в art. subclavia через вставленную иглу быстрым толчком шприца вводился ацетилхолин. Оказалось, что при таком спо-

Рис. 5. Реакция мышц плавника на внутриартериальное введение ацетилхолина в норме *(a)* и после отравления эзерином (*b*). Цифры внизу кривой обозначают дозы ацетилхолина в гаммах

собе введения чувствительность мышц плавника к ацетилхолину очень велика. Уже при очень малых дозах возникает быстрое сокращение, которое может быть уподоблено короткому тетанусу. Это быстрое сокращение непосредственно переходит в контрактуру. При увеличении дозы контрактура делается все более и более длительной. Пороговая концентрация равна 0,05—0,1 γ. С увеличением концентрации вводимого ацетилхолина происходит нарастание высоты сокращения. Максимальное сокращение развивается уже при введении 4,0 γ ацетилхолина. По высоте это сокращение соответствует пятисекундной тетанизации в ритме 180 в 1 сек. (рис. 4). Дальней-

шее увеличение количества вводимого ацетилхолина вызывает длительную контрактуру, ничем не отличающуюся от контрактуры тонических мышц амфибий, рептилий и птиц.

Предварительная перфузия эзерина в разведении $1 : 2 \cdot 10^5$ вызывает некоторое повышение чувствительности к ацетилхолину. Например, в одном из опытов пороговая чувствительность с 0,16 γ ацетилхолина повысилась до 0,04 γ. При этом оказывается, что резко возрастает (до 300%) и быстрый компонент сократительного акта, вызванный введением ацетилхолина, и медленный компонент — контрактура в обычном понимании этого термина (рис. 5). Таким образом, и по реакции на ацетилхолин мышцы костистых рыб должны быть отнесены к типу тонических. Тот факт, что ряд исследователей (так же как и мы) не обнаружили реакции мышц костистых рыб на ацетилхолин при погружении в раствор, свидетельствует о том, что мышцы рыб обладают своеобразными особенностями, отличающими их от типичных тонических мышц амфибий и рептилий. Однако отличие это заключается не в отсутствии тонической реакции на ацетилхолин, но в особых условиях эксперимента (внутриартериальное введение), которые должны быть применены, чтобы эту реакцию обнаружить.

Действие ацетилхолина, вводимого во время тетанического сокращения

Гинецинский и Шамарина показали, что у кошки малые дозы ацетилхолина, вводимые на высоте сокращения, вызывают отчетливое торможение сократительной реакции. Эти данные были истолко-

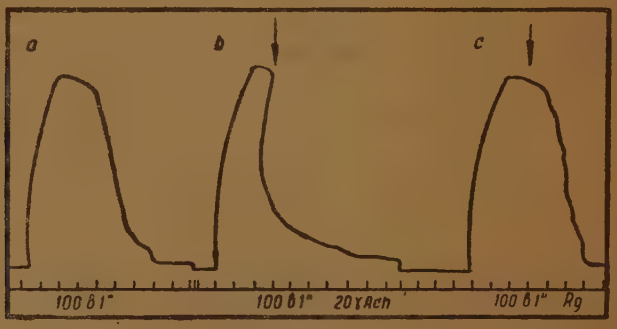


Рис. 6. Влияние ацетилхолина на тетаническое сокращение m. sartorius лягушки:

a — кривая сокращения при 8-секундном раздражении в ритме 100 в 1 сек; *b* — то же, в момент, обозначенный стрелкой, в артерию введено 20 γ ацетилхолина; *c* — то же, в момент, обозначенный стрелкой, в артерию введен раствор Рингера

ваны авторами как свидетельство того, что избыток ацетилхолина в известных условиях эксперимента может явиться причиной пессимального торможения. На основании данных нашей лаборатории можно было ожидать, что тормозящее действие ацетилхолина проявляется у всех нетонических мышц теплокровных и холоднокровных животных. Для проверки этого предположения мы осуществили соответствующие опыты на m. sartorius лягушки и на мышцах плавника рыб. В art. iliaca вставлялась металлическая канюля (игла от

шприца), и все сосуды, за исключением идущего к исследуемой мышце, перевязывались. Plexus ischiadicus подвергался раздражению в ритме 25, 50 и 100 в 1 сек. в течение 8 сек. На 2-й секунде вводился ацетилхолин. При этом оказалось, что в момент введения ацетилхолина сокращение отчетливо уменьшается (рис. 6). Чем чаще ритм раздражения и чем больше доза ацетилхолина, тем резче выражен тормозный эффект. Таким образом, реакция нетонической мышцы лягушки в рассматриваемом отношении принципиально не отличается от реакции мышц млекопитающих. Иная картина получалась при исследовании мышц плавника рыбы. Ацетилхолин вводился внутриартериально на 5-й секунде тетанического раздражения. Оказалось, что при всех ритмах раздражения мышцы плавника реагируют на введение ацетилхолина повышением кривой сокращения (рис. 7) и никогда не дают того характерного снижения кривой, которое свойственно нетоническим мышцам. Эзеринизация препарата усиливает этот эффект и вызывает типичную для тонической мышцы контрактуру. Таким образом, и данные с введением ацетилхолина на фоне

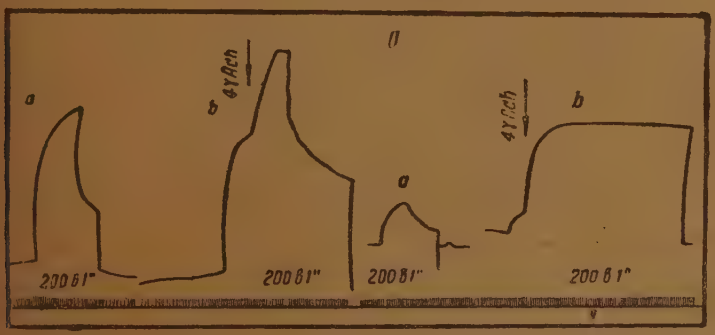


Рис. 7. Влияние ацетилхолина на тетаническое сокращение мышц плавника:

I — нормальная мышца; *a* — кривая сокращения при 8-секундном раздражении в ритме 200 в 1 сек; *b* — то же, в момент, обозначенный стрелкой, введено 4 γ ацетилхолина *II*. *a* и *b* — то же после отравления эзерином

сокращения мышцы, вызванного различными ритмами раздражения, подтверждают наше заключение о тоническом характере плавниковых мышц рыб.

Обсуждение результатов

Деление скелетной мускулатуры холоднокровных на тонические и нетонические мышцы впервые было сформулировано в классификации Sommerkamp, причем критерием для этого деления была принята способность реагировать контрактурой на погружение в раствор ацетилхолина. Рядом работ Wachholder, Riesser, Rückert была получена сравнительная характеристика функциональных свойств тонических и нетонических мышц по другим показателям. Было установлено, что только те мышцы, которые реагируют контрактурой на ацетилхолин, способны к монофибриллярной суммации, они же обладают большей пластичностью, чем нетонические мышцы. Гинецинский и Михельсон показали далее, что эзерин оказывает совершенно раз-

личное действие на сократительный акт тонических и нетонических мышц, вызванный нервным импульсом. Оказалось, что тонические мышцы реагируют на избыток ацетилхолина, выделенного при раздражении, контрактурой, в то время как нетонические мышцы, например m. sartorius, при тех же условиях реагируют пессимальной реакцией.

Лейбсон, Ченыкаева и Михельсон обнаружили, что экстракты из тонических мышц содержат значительно больше холинэстеразы, чем экстракты из мышц нетонических. Сопоставляя все эти данные, Гинецинский пришел к заключению, что «тоничность» связана с определенной особенностью рецептивной субстанции мышечного волокна. С этой точки зрения способность реагировать контрактурой на ацетилхолин является основным признаком, который должен всегда коррелировать с другими признаками, обусловленными характеристикой рецептивной субстанции мышечного волокна, находящегося на данном этапе дифференцировки.

В наших опытах с мускулатурой рыб мы нашли: 1) что в мышцах плавника резко выражена способность к монофибриллярной суммации; 2) влияние эзерина на мышцы плавника выражается в появлении контрактуры после прекращения непрямого раздражения мышцы; 3) этим мышцам не свойственна пессимальная реакция в условиях отравления эзерином, и, наконец, 4) на внутриартериальное введение ацетилхолина на фоне тетануса мышцы плавника реагируют не торможением, а увеличением сокращения. Если бы оказалось, как считали до сих пор, что мышцы рыб «нетоничны», тогда пришлось бы отказаться от предположения, что все эти признаки связаны с наличием в мышечном волокне субстрата, способного реагировать местным сокращением на ацетилхолин. Однако опыт показал, что при соответствующих условиях эксперимента тоническая реакция на ацетилхолин в мышцах рыб выступает с полной очевидностью. Следовательно, в этом случае корреляция функциональных признаков, которую мы считали проявлением определенной дифференцировки мышечного волокна, сохраняется так же, как и в мышцах других обследованных в нашей лаборатории классов животных. Закономерность, которая лежит в основе этой корреляции, конечно не предполагает тождества функциональных признаков различных «тонических» мышц. Прекрасным примером отсутствия такого тождества является тот факт, что тонические мышцы лягушки и черепахи реагируют контрактурой на простое погружение в раствор ацетилхолина, тогда как для того, чтобы вызвать контрактуру в мышцах рыб, необходимо применить «closed injection» по Dale.

Выводы

1. Мышцы плавника костистых рыб после отравления эзерином на непрямое раздражение реагируют остаточной контрактурой, подобно тоническим мышцам амфибий, рептилий и млекопитающих.

2. Не реагируя на ацетилхолин при погружении в раствор, мышцы плавника оказались высоко чувствительными к ацетилхолину, введенному внутриартериально. При малых концентрациях ацетилхолина они реагируют быстрым сокращением, при больших дозах — резко выраженной контрактурой.

3. В то время как в мышцах теплокровных и нетонические мышцы амфибий реагируют на внутриартериальное введение ацетилхолина в момент сокращения торможением, мышцы плавника костистых

рыб при всех частотах раздражения реагируют на введение ацетилхолина повышением кривой сокращения.

4. На основании вышеизложенного мы приходим к выводу, что мышцы плавника костистых рыб по своим функциональным свойствам должны быть отнесены к типу тонической поперечнополосатой мускулатуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гинецинский А. Г. и Итина Н. А. Бюлл. эксп. биол. и мед., *5*, 386, 1937.
2. Гинецинский А. Г. и Михельсон Н. И. Успехи совр. биол., *6*, 399, 1938.
3. Гинецинский А. Г. и Шамарина Н. М. Этот журнал, № 1, 1943.
4. Итина Н. А. Физиол. журн. СССР, *25*, 664, 1938.
5. Лейбсон Р. Г. Бюлл. эксп. биол. и мед., *7*, 518, 1939.
6. Михельсон Н. И. Этот журнал, № 1, 1943.
7. Ченыкаева Е. Ю. Этот журнал, № 1, 1943.
8. Brown, Dale a. Feldberg. J. Physiol., *86*, 394, 1937.
9. Ginezinsky A. G. Acta Medica USSR, 2, 425, 1939.
10. Ledebur u. Wunder. Zeitschr. vergl. Physiol., *21*, 236, 1934.
11. Riesser. Arch. f. exp. Path. u. Pharm., *134*, 1, 1928.
12. Rückert. Pflüg. Arch., *226*, 323, 1930.
13. Sommerkamp. Arch. f. exp. Path. u. Pharm., *128*, 99, и 679, 1928.
14. Wachholder. Pflüg. Arch., *229*, 1932, 675.

By N. M. SHAMARINA. FUNCTIONAL PECULIARITIES OF SOMATIC MUSCLE IN TELEOSTEAN FISHES

Laboratory of Neuromuscular Physiology of the I. P. Pavlov Physiological Institute (Director — L. A. Orbeli) of Academy of Sciences of the USSR, Leningrad

There is a vast accumulation of evidence testifying that acetylcholine takes an active part in the transmission of nerve impulses in the muscles of both warm-blooded and cold-blooded animals (amphibians and reptiles). Therefore it is of interest to study other classes of animals for the transmission of stimuli in the neuro-muscular synapse of their somatic muscle. The objects investigated by the present author have been some representatives of teleostean fishes, the perch, the pike, the sheat and the eel. They have been investigated for the reaction of the muscles of their pectoral fin to indirect stimulation by electrical currents varying in frequency and intensity; for their response to intra-arterial administration of acetylcholine; for the influence of eserine on the contraction and finally for the action of acetylcholine introduced intra-arterially into a contracting muscle.

From the results obtained in these tests the author has come to the following conclusions:

1) Indirect stimulation fails to produce a Wedensky effect in the fin muscles under given conditions.

2) Nor does this effect appear in eserine treated muscles at a low frequency of stimuli, though it is known to be a typical response to eserine treatment in the case of muscles of warm-blooded animals and in that of non-tonic muscles of a frog. After poisoning with eserine the reacton of both fin muscles and a tonic muscle of a frog to indirect stimuli is to develop a long contracture after stimulation.

3) The somatic muscles of teleostean fishes are, according to Riesser and the data obtained in this laboratory, not sensitive to even

strong doses of acetylcholine applied externally. The method of small doses administered intra arterially, used by the author, has revealed in the fin muscles a very hing sensitivity to acetylcholine (0.1 γ). The contraction is at maximum when 4.0 γ of acetylcholine have been introduced. An increase in the concentration of acetylcholine is accompanied by a growth of the rapid component and a sharp increase in the contracture Eserine raises the sensitivity to acetylcholine and increases the contracture caused by its introduction.

4) When acetylcholine is administered intra-arterially at the moment of contraction, the result both in the case of low (50 per sec) and high (250 per sec.) frequencies is to intensify the contracting act, which is not the case with muscles of warm-blooded animals or with non-tonic muscles of the cold-blooded which exhibit a pessimum reaction in similar instances.

From what has been said here it may be inferred that the fin muscles of teleostean fishes should according to their functional properties be classed with the tonic striated type of muscles. However there are some peculiarities in the functional characteristics ofthese muscles which do not permit to consider all tonic muscles to be identical in their functional features, and point to the presence of some transitional forms.

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Л. Ф. Березкина. О возможности индукции хрящеобразования 67

Р. Л. Борсук. К вопросу о роли центральной нервной системы при регенерации хвоста у аксолотля 74

И. А. Рапопорт. Генетический анализ зависимой дифференциации в эмбриогенезе двукрылых. Сообщение 2 . . . 80

Л. Г. Лейбсон и Р. С. Лейбсон. Нервная и гуморальная регуляция содержания сахара в крови в процессе онтогенеза. Сообщение 1 93

Г. В. Гершуни и С. П. Нарикашвили. О деятельности проприоцепторов скелетной мышцы лягушки при воздействии некоторых химических веществ 101

Н. М. Шамарина. Функциональные особенности соматической мускулатуры костистых рыб 116

CONTENTS

Page

L. F. Berezkina. On the possibility of induced formation of cartilage in vitro 73

R. L. Borsuk. Rôle of central nervous system in regeneration of tail in axolotl 79

I. A. Rapoport. Genetic analysis of dependent differentiation in the embryogenesis of Diptera. II 92

L. G. Leibson and R. S. Leibson. Neural and humoral regulation of the blood sugar content in ontogenesis. I 100

G. V. Gershuni and S. P. Narikashvili. On the activity of the proprioceptors of the skeletal muscle of the frog under the action of certain chemical substances 114

N. M. Shamarina. Functional peculiarities of somatic muscle in teleostean fishes 123

Ответственные редакторы акад. В. Л. Комаров и акад. Л. А. Орбели

Подписано в печать 16/VI 1943 г. Печ. лист. 3¾. Уч.-издат. лист. 6
Тираж 1300 экз. Л28382. Цена 9 руб. Заказ 246

18-я тип. треста «Полиграфкнига», Москва, Шубинский пер., 10.

Цена 9 руб.